N° d'ordre : 207

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean BOISSEAU

1re Thèse - Les régulations hormonales de l'incubation chez un Vertébré mâle : recherches sur la reproduction de l'Hippocampe.

2e Thèse - Propositions données par la Faculté.

TOME I

soutenues le 16 décembre 1967, devant la Commission d'Examen :

MM. M. AVEL, Professeur, Correspondant de l'Institut.....	*Président*
J.-H. VIVIEN, Doyen de la Faculté des Sciences de Strasbourg.....	*Examinateurs*
R. WEILL, Professeur.....	
J.-J. BOUNHIOL, Professeur.....	
R. CAMBAR, Professeur.....	

— 1967 —

N° d'ordre : 207

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Jean BOISSEAU

1re Thèse - Les régulations hormonales de l'incubation chez un Vertébré mâle : recherches sur la reproduction de l'Hippocampe.

2e Thèse - Propositions données par la Faculté.

TOME I

---

soutenues le 16 décembre 1967, devant la Commission d'Examen :

MM. M. AVEL, Professeur, Correspondant de l'Institut.....	*Président*
J.-H. VIVIEN, Doyen de la Faculté des Sciences de Strasbourg.....	*Examinateurs*
R. WEILL, Professeur.....	
J.-J. BOUNHIOL, Professeur.....	
R. CAMBAR, Professeur.....	

— 1967 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A mon Maftre

BORDEAUX

-:-:-:-

FACULTE DES SCIENCES

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Doyen honoraire : M. BRUS

Doyen : M. CALAS

Professeurs honoraires :

M. KASTLER.....	Professeur à la Sorbonne
M. PISOT.....	Professeur à la Sorbonne
Melle JOSIEN.....	Professeur à la Sorbonne
M. MILLOUX	
M. DANGEARD	
M. CAU	

Professeurs :

M. BRUS.....	Chimie
M. AVEL.....	Zoologie et physiologie animale
M. ROUSSET.....	Physique générale
M. ROGER.....	Mécanique rationnelle
M. WEILL.....	Anatomie comparée et embryogénie
M. DUFRESNOY.....	Mathématiques générales
M. LAFON.....	Physiologie générale
M. BOUNHIOL.....	Biologie animale
M. SERVANT.....	Physique
M. CALAS.....	Chimie organique
M. GAY.....	Cristallographie et minéralogie
M. PACAULT.....	Chimie physique
M. SCHŒLLER.....	Géologie
M. DAVID.....	Physiologie végétale
M. COLMEZ.....	Méthodes mathématiques de la physique
M. CAMBAR.....	Biologie animale
M. VIG NEAUX.....	Géologie
M. PANOUSE.....	Zoologie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc).
M. ARZELIES.....	Physique (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. RIBEREAU-GAYON.....	Œnologie et chimie agricole
M. RISS.....	Mathématiques
M. GUIZONNIER.....	Physique
M. HAGET.....	Zoologie expérimentale
M. SEMIROT.....	Astronomie
M. CHASTEL.....	Physique nucléaire
M. HAGENMULLER.....	Chimie minérale
M. CREAC'H.....	Biologie animale
M. LOUDETTE.....	Mécanique physique
M. PATY.....	Chimie
M. BORDES.....	Préhistoire
M. SECHET.....	Botanique
M. LAFARGUE.....	Physique - C.S.U. de PAU
M. BAGANAS.....	Mathématiques
M. VALENTIN.....	Radioélectricité
M. ENNOUCHI.....	Géologie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc).

M. EYME	Botanique
M. FRAINNET	Chimie organique
M. RUAMPS	Physique électronique
M. DESCHAMPS	Chimie - C.S.U. de PAU
M. HOARAU	Chimie physique
M. LALANDE	Chimie appliquée
M. MARCHAND	Chimie
M. GOTTIS	Géologie dynamique
M. LEMANCEAU	Chimie
M. CARDO	Psychophysiologie
Mme AMICE	Calcul infinitésimal
M. ROCH	Physique
M. CLASTRE	Cristallographie physique
M. BLONDEL	Mathématiques
M. SOURISSEAU	Chimie
M. JOUSSOT-DUBIEN	Chimie
M. MAYER	Physique - C.S.U. de PAU
Melle FAURE-MURET	Géologie (détachée à la Faculté des Sciences du Maroc)
Melle LAFFITTE	Physique
M. LOCHET	Physique
M. VALADE	Chimie organique
M. VINDT	Biologie végétale
M. REGNIER	Mathématiques
M. DESTRIAU	Chimie
M. PETIT	Physique corpusculaire
M. CLIN	Géologie
M. BARAUD	Chimie biologique
M. EMBERGER	Géologie
M. SIMONOFF	Chimie physique
M. BOTHOREL	Chimie
M. CHARRU	Physique
M. LASCOMBE	Chimie
M. RIMPAULT	Physique théorique
M. BONASTRE	Chimie - C.S.U. de PAU
M. BARETS	Biologie animale
M. GROMB	Chimie - C.S.U. de PAU
M. BELLON	Chimie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. PINEAU	Chimie
M. LEVEQUE	Géologie approfondie
M.N...	Chimie biologique et physiologie végétale
M. N...	Automatique
M. N...	Informatique.

Maître de conférences honoraire :

M. de PUYMALY

Maîtres de conférences :

M. BOUSSEAU	Physique
M. RIBEREAU-GAYON Pascal	Chimie œnologique
M. DUPUY	Physique - C.S.U. de PAU
M. MENNRATH	Physique
M. ANDRE	Biologie générale
Melle DUTRIEU	Physiologie animale

M. RAULT.....	Chimie minérale
Mme PETIT.....	Physique
M. BOUAS-LAURENT.....	Chimie organique
M. BERNET.....	Génétique
M. BABIN.....	Physique - C.S.U. de PAU
M. GOMEL.....	Chimie (détaché à la Faculté des Sciences du Maroc)
M. FRESNEL.....	Mathématiques
M. MATTENET.....	Mathématiques - C.S.U. de PAU
M. MOYES.....	Géologie
M. LUTZ.....	Botanique
M. MOULINES.....	Chimie
M. MENDES FRANCE.....	Mathématiques
M. METRAS.....	Chimie -C.S.U. de PAU
M. POUCHARD.....	Chimie minérale
M. LESCA.....	Mathématiques
M. ARTOLA.....	Mathématiques
M. DUMERY.....	Mécanique
M. de MAHTAN.....	Mathématiques
M. N...	Physique
M.N.	Physique - C.S.U. de PAU
M. N...	Physique théorique
M. N...	Physique théorique
M. N...	Mathématiques - C.S.U. de PAU

Conseiller administratif :

M. LLORENS

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

SOMMAIRE

-:-:-:-

Pages

AVANT - PROPOS. -

INTRODUCTION..... 1

Chapitre I. - MATERIEL ET METHODES..... 3

I. - Matériel..... 3
II. - Elevages..... 3
III. - Techniques..... 6
1°) Anesthésie..... 6
2°) Matériel et précautions générales..... 6
3°) Hypophysectomie..... 8
4°) Castration..... 10
5°) Stanniectomie..... 12
6°) Repérage des stades du développement embryonnaire sur l'animal vivant..... 13
7°) Injection d'hormones..... 13
8°) Histologie..... 14
9°) Méthodes caryométriques..... 15

Chapitre II. - ETUDE DU CYCLE SEXUEL CHEZ L'HIPPOCAMPE..... 16

I. - Etude des populations, croissance, époque de reproduction..... 16
1°) Mensurations..... 17
2°) Croissance..... 19
3°) Croissance relative de la "tête" et du "tronc"..... 22
4°) Epoque de reproduction..... 24

II. - Etude du cycle mâle, structure du testicule, spermatogenèse... 26
1°) Morphologie du testicule..... 26
2°) Anatomie histologique..... 26
3°) Les éléments génitaux..... 30
4°) Le cycle annuel..... 37
5°) Le tissu interstitiel..... 42
a) Situation - Structure..... 43
b) Evolution au cours du cycle sexuel..... 45

Pages

III. - Différenciation génitale et apparition du marsupium..... 49
1°) Différenciation génitale..... 49
2°) Apparition du marsupium..... 51

IV. - Structure et évolution du marsupium en dehors de l'incubation. 52
1°) Structure..... 54
2°) Evolution du marsupium au cours du cycle annuel (incubation exceptée)..... 55

V. - Etude expérimentale de l'évolution du marsupium en dehors de l'incubation..... 59
1°) Castration de mâles mûrs..... 60
2°) Injection de testostérone à des castrats mûrs..... 62
3°) Hypophysectomie de mâles mûrs..... 62
4°) Injection de testostérone à des mâles normaux..... 65

VI. - Etude du cycle sexuel femelle - Structure de l'ovaire, ovogenèse, atrésie ovulaire..... 65
1°) Morphologie des ovaires..... 65
2°) Anatomie histologique..... 66
3°) Les cellules germinales..... 68
4°) Les follicules atrétiques..... 70
a) Les follicules post-ovulaires..... 70
b) Les follicules pré-ovulaires..... 73
5°) Le cycle saisonnier..... 74

VII. - Etude expérimentale de la région sous-anale femelle..... 84
1°) Structure de la région sous-anale normale..... 85
2°) Structure anormale de la région sous-anale..... 88
3°) Variations saisonnières du pourcentage de femelles présentant une anomalie sous-anale..... 92
4°) Documents histologiques ovariens..... 93
5°) Action de quelques hormones sur la région sous-anale des Hippocampes femelles..... 95
a) Action de la testostérone..... 95
b) Action de l'œstradiol..... 97
c) Action de la progestérone..... 99
d) Action de la pregnéninolone..... 101
e) Action des hormones gonadotropes..... 102
f) Conclusion..... 102
6°) Action de l'hypophysectomie..... 103
7°) Action de la castration..... 105
8°) Action des corticoïdes et de l'ACTH..... 106
9°) Conclusion..... 108

Chapitre III. - ETUDE DESCRIPTIVE DE L'INCUBATION..... 114

I. - Accouplement..... 114
II. - Développement embryonnaire de l'Hippocampe..... 116
III. - Nidation des œufs, évolution du marsupium au cours de l'incubation..... 123
1°) Nidation des œufs..... 125
2°) Evolution du marsupium au cours de l'incubation..... 129

IV. - Variations du volume du marsupium au cours de l'incubation.. 139
1°) Technique de mesure du volume interne du marsupium. 139
2°) Relation entre la taille et le volume "initial" du marsupium..... 140

Pages

3°) Relation entre la taille du mâle , le volume "final" du marsupium et le nombre d'embryons..... 143
4°) Variation du volume marsupial enfonction du temps..... 144
5°) Influence du nombre des embryons..... 146

Chapitre IV. - ANALYSE DES CORRELATIONS HORMONALES IMPLIQUEES DANS L'INCUBATION..... 147

I. - Action de la castration..... 147
II. - Action de l'hypophysectomie..... 149
1°) Résultats globaux..... 153
2°) Etude des progénitures..... 168

Résultats généraux des expériences d'hypophysectomie..... 177

III. - Action des hormones gonadiques..... 178

A./. - Protocole expérimental..... 178
B./. - Résultats;..... 178
1°) Action de la testostérone..... 178
2°) Action de l'œstradiol..... 184
3°) Action de la pregnéninolone..... 189
4°) Action de la progestérone.....
5°) Conclusions générales relatives à l'action des hormones gonadiques..... 192

IV. - Action des corticoïdes, de l'ACTH et d'un inhibiteur surrénalien 194
V. - Action de la prolactine..... 203
VI. - Action conjointe de l'ACTH et de la prolactine..... 205

Chapitre V. - L'ORGANE INTERRENAL DE L'HIPPOCAMPE..... 207

I. - Description..... 207
II. - Evolution cyclique annuelle de l'interrénal..... 210
1°) Diamètre nucléaire moyen..... 211
2°) Densité nucléaire moyenne..... 211
3°) Longueur de l'interrénal..... 212
4°) Coupe type..... 212
5°) Résultats..... 213
a) Hippocampus guttulatus..... 213
b) Hippocampus hippocampus..... 222
6°) Conclusion..... 228
a) Hippocampus guttulatus..... 230
b) Hippocampus hippocampus..... 230

Chapitre VI. - ACTION DES TRAITEMENTS EXPERIMENTAUX SUR L'INTERRENAL ET LES STRUCTURES MARSUPIALES..... 232

I. - Action de la castration..... 232
II. - Action de l'hypophysectomie..... 233
III. - Action de l'ACTH sur les mâles normaux et sur les mâles hypophysectomisés..... 247
IV. - Action des hormones sexuelles..... 254

A./. - Testostérone..... 254
1°) Action sur les mâles normaux..... 254
2°) Action sur les castrats..... 258

Pages

3°) Action sur les hypophyséoprives..... 258

B./.- Oestradiol..... 263

1°) Sur les mâles normaux..... 263
2°) Sur les mâles castrés..... 266
3°) Sur les hypophyséoprives..... 267

C./.- Progestérone..... 269

1°) Sur les mâles normaux..... 269
2°) Sur les mâles castrés..... 270
3°) Sur les hypophyséoprives..... 273

D./.- Pregnéninolone..... 274

E./.- Conclusion..... 275

V.- Action des corticoïdes et d'un inhibiteur surrénalien..... 275
1°) Action de la cortisone et du DOCA sur les hypophyséoprives..... 275
2°) Action de la cortisone, du cortancyl et du soludécadron sur des mâles incubants normaux..... 278
3°) Action de la métopirone..... 281
4°) Conclusion..... 282

VI.- Action d'un stress..... 283
VII.- Action d'un stress + ACTH..... 286
VIII.- Action de la Prolactine..... 287
1°) Action sur les mâles normaux..... 287
2°) Action sur les hypophyséoprives..... 290

IX.- Action conjointe de l'ACTH + prolactine..... 293
X.- Conclusion..... 301

Chapitre VII.- ETUDE DU LIQUIDE MARSUPIAL DE L'HIPPOCAMPE..... 304

I.- Historique..... 304
II.- Résultats..... 306
1°) Protéines totales..... 306
2°) Variations des taux et des proportions de protéines au cours de l'incubation..... 309
3°) Origine du liquide marsupial..... 310
4°) Origine et nature du facteur de transformation des protéines marsupiales..... 314
5°) Action d'un antiprotéolytique..... 317
6°) Action de la prolactine..... 319
7°) Etude du liquide péri-embryonnaire..... 319
III.- Conclusions..... 322

Chapitre VIII.- ETUDE DES MASSIFS CORTICOTROPES ET PROLACTINIENS DE L'HYPOPHYSE DE L'HIPPOCAMPE..... 324

I.- Cellules corticotropes..... 325
1°) Variations de la densité et du diamètre nucléaire moyens 325
2°) Mesures des variations de volume des cellules corticotropes..... 334
3°) Mesures des variations de longueur du massif des cellules corticotropes..... 336

Pages

4°) Comparaison des résultats obtenus par l'étude de la densité et du diamètre nucléaires moyens d'une part, et des variations de volume (ou de longueur) d'autre part, du massif cellulaire corticotrope..... 339
5°) Variations comparées de l'activité des cellules corticotropes et de l'interrénal..... 341

II. - Cellules à prolactine..... 342
1°) Méthode d'étude..... 342
2°) Variations du diamètre et de la densité nucléaire moyens 343
3°) Variation du volume du massif prolactinien..... 347
4°) Comparaison entre les résultats obtenus par les deux méthodes..... 347
5°) Etude des variations de la masse nucléaire moyenne..... 349
6°) Variations comparées de l'activité de la pro-AH et celle de l'épithélium marsupial..... 352

III. - Action de quelques hormones sur les cellules corticotropes et sur la pro-AH de l'hypophyse de l'Hippocampe..... 353
1°) Méthode..... 353
2°) Résultats..... 354
3°) Conclusions à l'étude de l'hypophyse..... 358

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES..... 363

BIBLIOGRAPHIE..... 367

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

AVANT - PROPOS

-:-:-:-:-

Les recherches dont les résultats font l'objet de ce mémoire sont l'aboutissement de nombreuses années de travail effectué au Laboratoire d'Anatomie Comparée de la Faculté des Sciences de Bordeaux.

Le sujet m'en a été proposé par mon Maître le Professeur R. WEILL. On ne peut résumer en une phrase tout ce que l'élève doit au Maître après tant d'années de collaboration. La bienveillance et la confiance dont il a empreint tous nos rapports, ses conseils, ses encouragements, son aide, ont rendu ce travail possible. Je suis heureux de lui exprimer ma très profonde et très sincère gratitude.

Monsieur le Professeur M. AVEL, Correspondant de l'Institut, a bien voulu accepter la présidence de mon jury. Qu'il me soit permis de lui adresser mes remerciements respectueux et le témoignage de ma grande et sincère admiration.

Monsieur le Doyen J. VIVIEN, a accepté de venir juger mon travail ; ses recherches ont toujours été pour moi un guide et un modèle dont je me suis largement inspiré. Je lui exprime ici ma respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Professeur J. J. BOUNHIOL m'a toujours reçu avec bienveillance et s'est constamment intéressé au déroulement de mon travail ; ses nombreux conseils m'ont été précieux. Je le prie de croire à ma respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur R. CAMBAR a entouré mes débuts dans la recherche d'une sollicitude dont je n'oublierai jamais la sincérité ; il est resté en toutes circonstances un conseiller amical et judicieux. Je le prie de croire à mon profond et sincère attachement.

La réalisation de ce mémoire aurait été impossible sans les aides multiples dont j'ai bénéficié. Monsieur IMBERT, aide-technique, m'a constamment soutenu par son efficacité, sa compétence, sa gentillesse et m'a aidé à franchir bien des difficultés. Je suis heureux de lui exprimer mes remerciements amicaux. Madame SOULIE a assuré, avec beaucoup de dévouement, la plus grande partie de la réalisation matérielle de ce mémoire, je l'assure de mon amicale reconnaissance. Monsieur BRAJAT, m'a toujours apporté une aide précieuse dans sa multiplicité, je l'en remercie bien amicalement. Je tiens à souligner l'importance qu'a eu pour moi monsieur Michel DEYZI qui, à la Station Biologique d'Arcachon, a réussi, dans des conditions parfois très difficiles, à me procurer le matériel vivant dont j'avais besoin. Je suis heureux de lui exprimer mon amitié et ma reconnaissance. A maintes reprises mes collègues et le personnel des laboratoires d'Anatomie Comparée, de Biologie Générale, de l'Institut de Biologie Marine d'Arcachon, de Zoologie Expérimentale, de Zoologie et Biologie Générale, de Biologie Animale, de Physiologie Générale ont facilité mes recherches. Qu'il me soit permis, avec mes remerciements, de leur dire le plaisir que j'ai eu au contact de leur amitié.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

INTRODUCTION

-:-:-:-:-:-

L'incubation marsupiale particulière aux Syngnathidés a frappé les esprits depuis fort longtemps, puisque les premières descriptions de la libération des jeunes sont dues à ARISTOTE (1), qui pensait évidemment avoir affaire à des femelles. Ce n'est que 1800 ans plus tard que RONDELET (1554) fait faire des progrès substantiels à la connaissance de la sexualité des Syngnathidés en décrivant, magistralement pour l'époque, le marsupium, les œufs, les embryons et l'expulsion des jeunes. Il ne fait qu'une seule erreur, celle des auteurs anciens : les animaux gravides seraient des femelles. Malgré un certain nombre de travaux les choses en restent là jusqu'en 1784 où WALCOTT découvre que le "false-belly" trouvé sur la queue des animaux chargé d'œufs est toujours et uniquement porté par les mâles ; malheureusement son manuscrit restera inconnu pendant plus d'un demi-siècle. C'est en 1831 qu'ERKSTRÖM redécouvre que ce sont seulement les mâles qui possèdent une poche et portent les œufs fécondés. Il décrit fort bien le marsupium,

---

(1) On trouvera l'historique détaillé de la question dans l'excellent article de GUDGER (1906).

la copulation, les embryons, l'expulsion des jeunes et déclenche une polémique qui durera des années. Elle suscite sur les Syngnathidés, de nombreux travaux souvent contradictoires, car s'adressant à des genres et des espèces fort différents, et qui aboutissent en 1902 aux travaux de HUOT et en 1904 à ceux de COHN. Si les modalités de la reproduction chez les Syngnathidés sont précisées dans ces deux mémoires, on peut dire qu'ils n'ajoutent rien d'essentiel aux observations de WALCOTT et d'ERKSTRÖM, non plus que l'imposante monographie de DAUTHER (1925) malgré son importance et sa minutie. Il faut attendre ensuite les travaux de LEINER (1936-1937) et ceux de LINTON et SOLOFF (1964) pour que soit posés en terme de physiologie moderne les problèmes de la nature du milieu marsupial et de ses variations hydrominérales et celui de la respiration des embryons.

Ainsi, au terme de cette revue historique rapide, on peut dire que si l'existence d'une incubation marsupiale paternelle est connue depuis 1831, si elle a été décrite à de nombreuses reprises, mais peu abordée du point de vue physiologique, aucun travail ne s'est proposé de répondre à la question : comment un organisme mâle assure-t-il l'élaboration et le contrôle de structures et de mécanismes permettant aux œufs fécondés d'effectuer leur développement harmonieux dans une cavité organique close, rôle en général dévolu aux femelles ?

Le but de ce travail est donc apparemment simple : essayer de découvrir les corrélations hormonales essentielles de l'organisme paternel impliquées dans la préparation et le déroulement de l'incubation. Pour cela, il faudra connaître d'abord avec précision l'évolution physiologique normale de cet organisme, ce qui n'a jamais été -ou peu s'en faut- la préoccupation des auteurs anciens ; ensuite, il faudra essayer d'aborder expérimentalement le phénomène incubatoire lui-même. Ce travail aura donc deux aspects : l'étude des modifications cycliques normales de structures ou d'organes d'une part, de l'autre l'analyse expérimentale de ces phénomènes.

-:-:-:-:-:-:-:-:-

-. Chapitre I .-

MATERIEL ET METHODES

-:-:-:-:-:-

I. - MATERIEL. -

Au cours de ce travail, j'ai utilisé les deux espèces d'Hippocampes très communes dans le Bassin d'Arcachon : Hippocampus guttulatus Cuv. et Hippocampus hippocampus L. (= H. brevirostris Cuv. = H. antiquorum Leach).

Ces deux espèces vivent côte à côte dans les herbiers à zostères sur les flancs et les fonds des chenaux. Cependant, si ces animaux sont abondants du 1er avril au 15 octobre, ils deviennent rares le reste de l'année. Cet amoindrissement saisonnier considérable de la population semble dû à son déplacement progressif vers les eaux plus profondes et plus chaudes de l'entrée du Bassin. H. guttulatus se raréfie le premier dès octobre et ne réapparaît que vers la fin mars, tandis que l'éclipse d'H. hippocampus, moins sensible sans doute à l'abaissement de température, ne dure que de décembre à février.

Tant par leur morphologie, leur anatomie topographique et histologique que par leur biologie, ces deux espèces sont extrêmement voisines. L'expérimentation a donc été menée indifféremment sur l'une ou l'autre ; cependant en raison de légers détails anatomiques qui rendent H. guttulatus plus favorable aux interventions chirurgicales, nous en avons fait le matériel principal du présent travail.

II. - ELEVAGES. -

Les Hippocampes pêchés à Arcachon sont maintenus vivants au laboratoire dans des aquariums de 15 à 20 litres d'eau de mer naturelle filtrée et aérée par un filtre individuel extérieur. La salinité et le pH

sont contrôlés toutes les semaines et ajustés de manière simple : l'évaporation est compensée par de l'eau douce, le pH ramené à sa valeur normale, soit par quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué, soit par une solution de carbonate de soude. L'eau de mer est renouvelée entièrement tous les mois. Dans la nature les Hippocampes, très médiocres nageurs, restent la plupart du temps accrochés par leur queue préhensile à des supports variés. Pour satisfaire à ce besoin, je leur ai fourni des perchoirs facilement nettoyables, constitués d'un pique-fleurs dont les trous remplis de paraffine maintiennent des baguettes de verre coudées auxquelles s'accrochent les animaux. Une baguette verticale centrale permet de la saisir commodément. Un tel dispositif m'a donné entière satisfaction.

L'alimentation d'un assez grand nombre (une centaine) d'Hippocampes en captivité pose un problème délicat. Dans leur milieu naturel, ils absorbent différents petits crustacés benthiques (petits Amphipodes et Isopodes, Copépodes et surtout Mysidacés). L'aliment donné au laboratoire doit être similaire : obligatoirement vivant, pas trop agile, assez gros pour être vu, assez petit pour passer par l'orifice buccal. Après de nombreux essais variés et décevants, ce sont finalement les Artemia salina qui donnent les résultats les meilleurs.

Les œufs d'Artemia sont mis à éclore dans des cuves de verre de 5 à 6 litres remplies d'eau de mer sursalée par évaporation et maintenue à 28°C. L'éclosion a lieu en 48 h. ; les nauplius sont alors transférés dans des grands bacs plats en fibrociment, contenant eux aussi de l'eau de mer sursalée et maintenue entre 25 et 28°C. Un bon démarrage de l'élevage est assuré à ce moment-là grâce à une culture de Nitzschia ; au bout de quelques jours, on la remplace par de la levure de bière, mise en suspension dans l'eau 2 à 3 fois par semaine. L'eau est oxygénée 2 fois par jour par un barbotage d'oxygène sous pression. Dans ces conditions on obtient des Artemia adultes en 2 ou 3 semaines.

Deux fois par semaine, à raison de 10 à 20 par Hippocampe, les Artemia sont introduites dans l'aquarium où elles vivent parfaitement.

En principe, les Hippocampes s'accomodent bien de ce régime. En réalité, il apparaît une fraction importante de réfractaires qui refusent cette nourriture. En outre, les opérés ou les individus soumis à des injections répétées d'hormones ne capturent pas d'Artémia. Pour pallier les effets d'un jeûne prolongé, les animaux sont alors gavés à l'aide d'une seringue hypodermique, munie d'un bout de sonde en gomme pour cathétérisme urétéral n°7. On introduit directement dans l'estomac de 1/10e à 8/10e de cm^3, suivant la taille de l'animal, du mélange suivant : 30 cc de protéolysat Oberval, 10 cc de lait, 1 jaune d'œuf, 5 g d'Isonutrine Myoral. Par rapport aux témoins, les résultats obtenus ont été satisfaisants.

En vue de différentes études expérimentales, j'ai essayé à plusieurs reprises d'élever des jeunes à partir de leur éclosion. Dans leur milieu naturel, ils passent par une phase planctonique qui dure de 6 à 8 semaines ; j'ai réalisé différents dispositifs tendant tous à maintenir les jeunes en suspension dans les bacs d'élevage. La nourriture se composait de nauplius d'Artemia dont ils sont extrêmement friands. Malgré de très nombreux essais, je n'ai jamais pu les maintenir en vie plus de 20 jours, et seulement au prix d'une très forte mortalité. Une seule fois un Hippocampe survécut 3 mois et mourut pour des causes accidentelles.

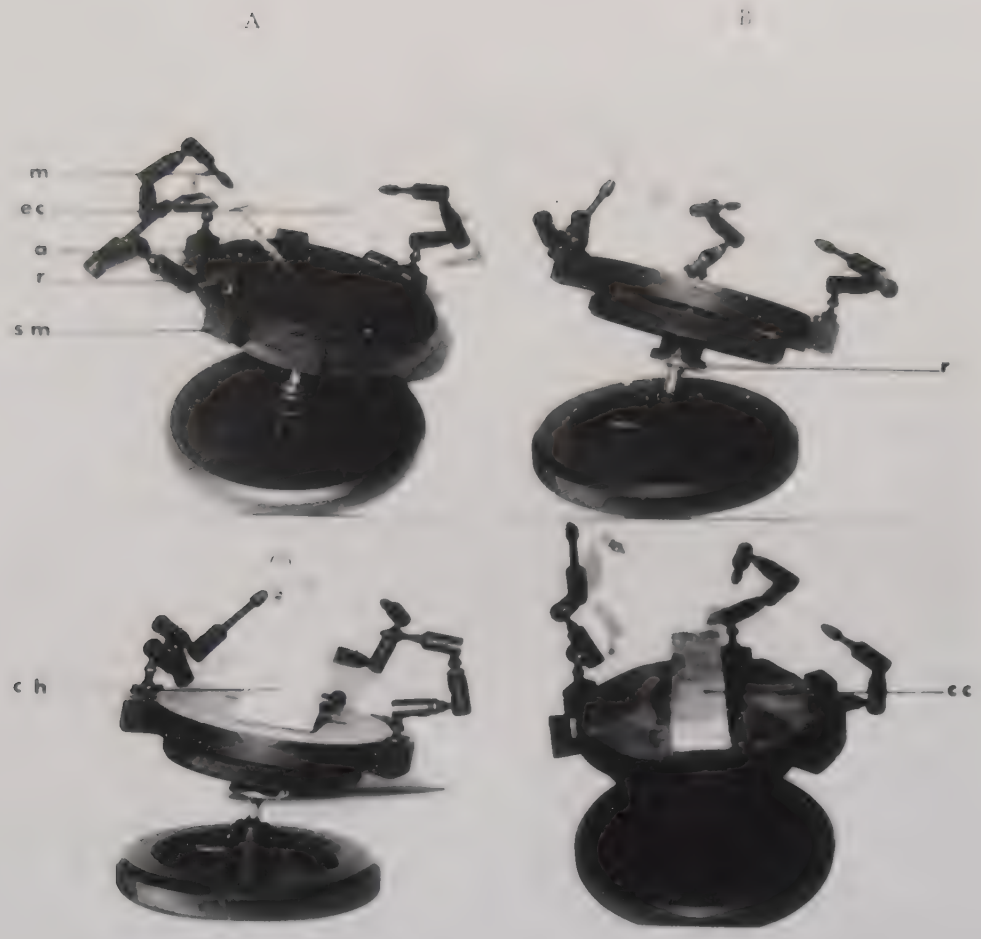


Fig. 1 : Table d'opération (x 1/4)

A : Vue de face B : Vue de profil

C : Munie de la cale pour l'hypophysectomie D : Munie de la cale pour la castration

Bien entendu dans tous les cas, les aquariums sont soigneusement et constamment débarassés à l'aspirateur de tous débris, déchets ou défécations.

III. - TECHNIQUES OPERATOIRES. -

1°) Anesthésie. -

Après avoir utilisé le M S 222 Sandoz qui donne d'excellents résultats, mais qui entraîne parfois des avortements des mâles incubants, j'ai adopté définitivement la technique de VIVIEN (1941) d'anesthésie à l'éther, en m'inspirant directement de son dispositif. De cette façon, j'ai toujours obtenu rapidement (5 minutes environ) d'excellentes anesthésies non choquantes, d'une durée de 15 minutes en moyenne, suffisante en général pour les besoins expérimentaux.

2°) Matériel et précautions générales (Fig. 1, p. 5). -

Les difficultés des voies d'accès et la nécessité de modifier l'orientation de l'animal en cours d'opération m'ont amené à réaliser une table d'opération orientable (1) munie d'écarteurs et d'aspirateurs mobiles. Construite en acier de façon à présenter une stabilité suffisante, elle se compose essentiellement d'un socle muni d'une rotule supportant la table proprement dite. Celle-ci est faite de deux disques se vissant l'un contre l'autre ; entre les deux peuvent se placer des secteurs portant chacun sur son bord externe un bras articulé sur lequel est fixé un écarteur ou un aspirateur. Ces bras sont réalisés à l'aide de 3 (ou 4) rotules à frottement dur, assemblées bout à bout, et portant à leur extrémité un mandrin d'horloger ; ils permettent d'obtenir de façon stable toutes les orientations souhaitables des écarteurs ou aspirateurs, en cours d'opération.

La surface de la table est abondamment percée de trous taraudés répartis sur des cercles concentriques ; ils servent à la fixation de cales de bois de forme adaptée à chaque type d'opération. Toutes ces cales portent à leur base 2 pitons ronds à travers lesquels passent 2 vis qui permettent de les fixer rapidement et solidement dans les trous de la table ; sur leur pourtour des pointes sans tête régulièrement espacées servent à la mise en place très rapide de bandes élastiques percées en leur centre de boutonnières qui maintiennent solidement l'animal.

Les écarteurs sont réalisés en fil d'acier chromé (Mi_4 de violon ou Mi_3 de guitare), tordus en boucle à une des extrémités, serrés dans le mandrin à l'autre. A la fois fins, souples et rigides, ils peuvent prendre toutes les formes désirables et cependant exercer toutes les tractions souhaitables.

Au cours des différentes interventions, j'ai utilisé divers aspirateurs, soit pour déblayer le champ opératoire, soit pour prélever l'hypophyse. Des seringues à insuline fixées sur les mandrins portés par les rotules sont adaptées à l'extrémité de tubes de nylon, mis en relation avec une trompe à vide. On peut placer ainsi à

---

(1) Avec la collaboration précieuse de monsieur P. RENAUD, Ingénieur A.M., que je remercie bien sincèrement.

-. Légende de la figure 2 : TECHNIQUE D'HYPOPHYSECTOMIE .-

1 : Incision ; 2 : Position de l'œil ; 3 : Dégagement de l'orbitosphénoïde ; 4 : Trépanation ; 5 : aspiration de l'hypophyse.

asp : aspirateur ; c : curette ; ec : écarteur ; f : fraise ; hyp : hypophyse ; m d op : muscles dilat teurs de l'opercule ; N P : nerf optique ; œ : œil ; p j : carré de papier Joseph posé sur la cornée ; p op : plaie opératoire ; s d : sens du dégagement des muscles dilatateurs de l'opercule ; v o : veines ophtalmique ; V : ramifications du trijumeau.

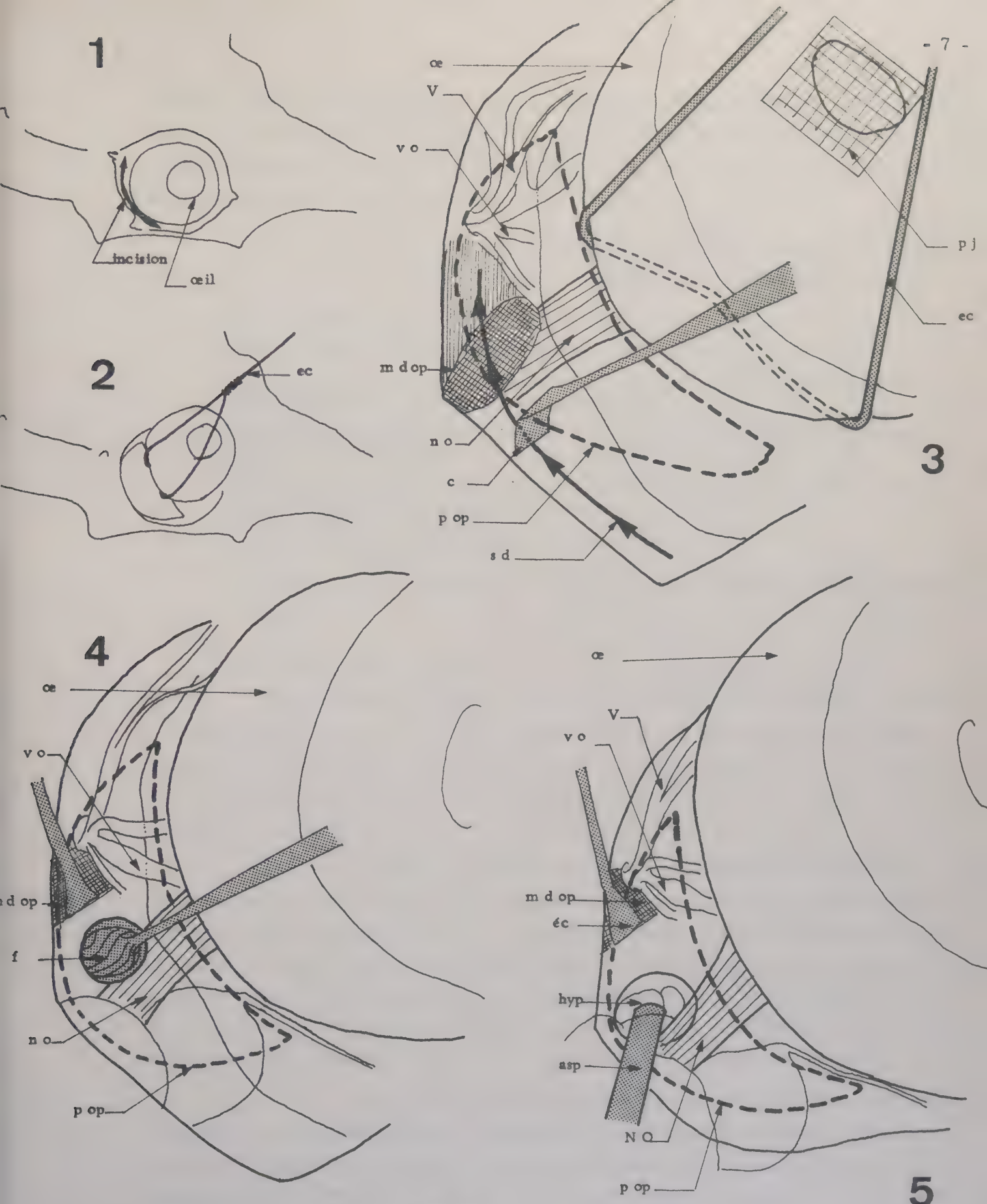

1
incision
œil
2
ec
3
œ
V
v o
m d op
n o
c
p op
s d
p j
ec
4
œ
v o
d op
f
n o
p op
5
œ
V
v o
m d op
éc
hyp
asp
N O
p op

Fig. 2

l'extrémité de ces seringues des aiguilles à injection hypodermique convenablement retaillées et modelées et d'un diamètre variable, choisi à l'avance. L'emploi de ces aiguilles me paraît présenter un quadruple avantage : commodité de réalisation, choix d'un calibre exact, adapté au but poursuivi, solidité, facilité avec laquelle on peut leur donner toutes les formes souhaitables, même en cours d'opération.

Des essais comparés m'ont montré qu'en ce qui concerne l'Hippocampe, une asepsie rigoureuse n'était pas nécessaire. J'ai toujours obtenu d'excellentes cicatrisations en prenant les précautions suivantes :

- les outils sont passés à l'acool à 100 pendant 15 minutes ;
- la région à opérer est tamponnée à l'eau oxygénée à 10 vol. ;
- les plaies en cours d'opération sont lavées, si le besoin s'en fait sentir (pour éviter la dessication ou pour enlever les sanies), par du Ringer sulfamidé à l'elcosine ;
- les plaies sont tamponnées tous les 2 jours avec de l'eau oxygénée à 10 volumes et les points sortis aussi tôt que possible (48 h. dans le cas de l'hypophysectomie, par exemple) ;
- pendant l'opération, à part le champ opératoire, les animaux sont entièrement enveloppés dans des compresses de gaze humidifiées à l'eau de mer ;
- le système d'éclairage est muni d'un verre anti-chaleur.

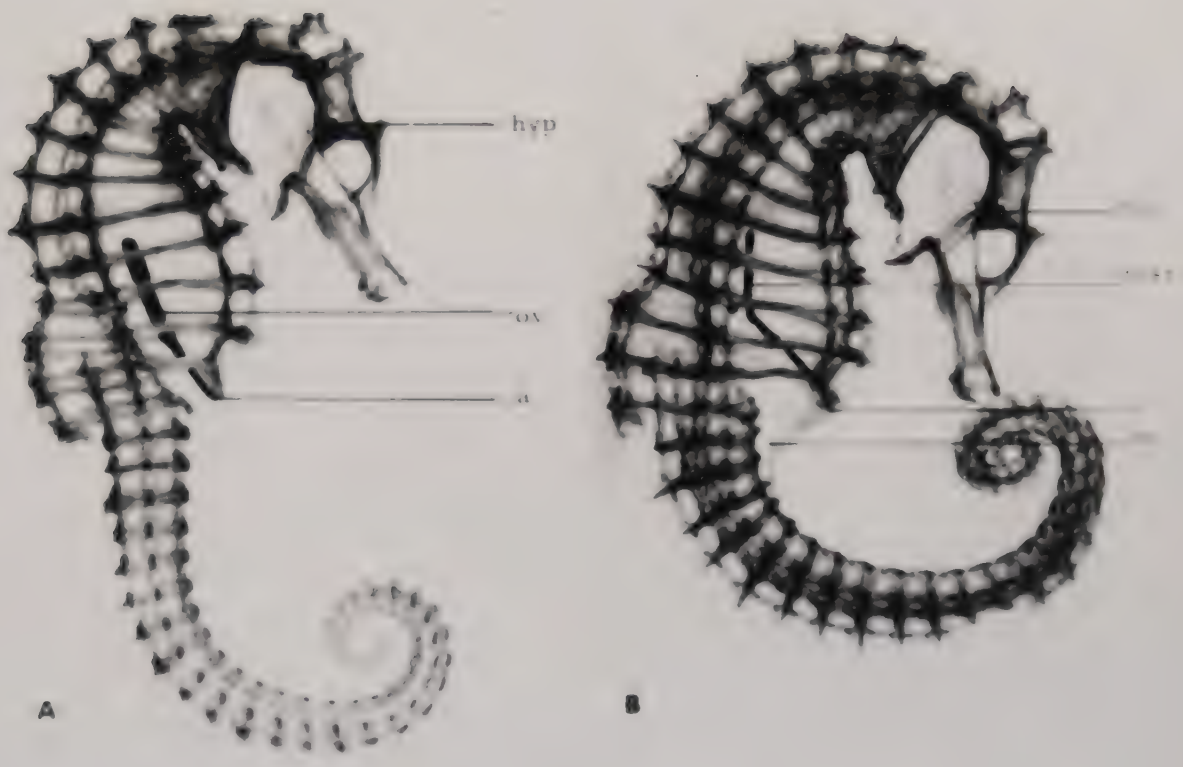
De cette façon, la mortalité post-opératoire due à de mauvaises cicatrisations est devenue extrêmement faible (moins de 2 %).

3°) Hypophysectomie (Fig. 2, p. 7).-

Chez l'Hippocampe l'ethmoïde, le vomer et les palatins d'une part, d'autre part le préoperculaire, le symplectique et le carré considérablement allongés, forment un long tube au bout duquel est reportée l'ouverture buccale (Fig. 3, p. 9). L'hypophysectomie par la voie palatine classique est donc impossible. En outre, la situation du cératohyal, de l'hypohyal et du glossohyal interdisent une intervention par la région sous-pharyngienne. J'ai donc été obligé de mettre au point une technique d'hypophysectomie par voie orbitaire.

a) L'animal enveloppé de gaze humide est placé sur le côté droit sur la cale, conçue de façon à ce qu'il soit incliné à 45° sur l'horizontale, dans le sens de la longueur, la tête tournée vers l'opérateur. En même temps, la tête est relevée de 30° environ vers la gauche, l'animal est solidement assujetti par deux bandes élastiques et en outre, un bracelet de caoutchouc bien tendu maintient la tête appliquée contre la cale. Un écarteur proportionné à la taille de l'œil et un aspirateur (aiguille (5/10e) sont en place, solidaires de la table. On dispose en outre devant soi deux aspirateurs, l'un portant une aiguille 10/10, l'autre une aiguille 4/10. La région oculaire est soigneusement lavée à l'eau oxygénée à 10 volumes et l'œil au collyre.

b) L'épiderme est coupé au sclérotome le long de la cavité orbitaire, de la saillie du sphénotique à l'épine frontale antérieure. L'écarteur est alors introduit dans l'orbite, sous l'œil qui, doucement relevé vers l'extérieur, dégage ainsi la face supéro-postérieure de l'orbite et permet d'apercevoir le nerf optique (à ce stade de l'intervention, il convient de placer un petit carré de papier Joseph imbibé de Ringer sur



: RADIOGRAPHIES D'HIPPOCAMPES MONTRANT LA SITUATION DE L'HYPOPHYSE ET DES GONADES

A : femelle

B : mâle

a : anus ; hyp : hypophyse ; m : marsupium ; o : ovaire ; test : testicule
(L'hypophyse et les gonades ont été redessinées sur les photographies).

la cornée de l'animal ; le carré de papier sera constamment maintenu très humide au cours de l'intervention, car la cornée est extrêmement sensible à la dessicatior . A l'aide d'une spatule coudée très fine les muscles dilatateurs de l'opercule sont détachés de la face interne du sphénotique et de l'orbitosphénoïde et repoussés vers le fond de l'orbite ; on dégage ainsi complètement la face latérale de l'orbitosphénoïde. A ce stade, on assèche soigneusement la plaie opératoire avec l'aspirateur 5/10.

c) On trépane l'orbitosphénoïde au tour de dentiste, à la fraise ronde n° 000, immédiatement en-dessous du nerf optique, dans l'angle inférieur antérieur de l'orbitosphénoïde en respectant soigneusement les nerfs II, III, IV et la grosse veine ophthalmique. Les débris de la trépanation sont enlevés à l'aspirateur 10/10 et le champ opératoire très soigneusement lavé au Ringer déposé à la pipette et aspiré ensuite. On obtient ainsi un orifice aux bords bien francs, de 1 à 2 mm de diamètre (suivant la taille de l'animal), laissant apercevoir les méninges.

d) L'incision des méninges est délicate : elle se réalise à l'aide de couteaux coudés de Paufique (un droit et un gauche). Elle est faite très soigneusement d'un bord à l'autre de l'orifice de trépanation, et ne doit intéresser que les seules méninges, qui baillent alors spontanément. On les repousse à droite et à gauche de façon à dégager entièrement l'orifice opératoire : l'hypophyse est visible par sa face latérale.

e) Le liquide céphalo-rachidien est enlevé avec précaution avec l'aspirateur 5/10. Puis on introduit dans la plaie l'aiguille 4/10 qu'on applique sur l'hypophyse en utilisant une aspiration plus forte. L'hypophyse sollicitée latéralement et de diamètre nettement supérieur à celui de l'aiguille se coince dans l'orifice de celle-ci, ce qui permet de l'extraire avec précaution en entier. L'aiguille hypodermique, avec l'hypophyse à son extrémité, est alors rapidement placée dans du liquide physiologique pour une vérification ultérieure de la totalité de l'exérèse.

f) Sans se préoccuper de la petite hémorragie due à la rupture des vaisseaux hypophysaires on remet rapidement en place les méninges, les muscles dilatateurs de l'opercule, puis l'œil. L'orifice opératoire est ainsi parfaitement obstrué, l'hémostase intervient aussitôt. L'épiderme est remis en place et fixé par deux points en soie de Kalt pour suture de cornée, à l'aide d'aiguilles courbes de Barraquer de 12 mm. La plaie est soigneusement lavée à l'eau oxygénée. L'animal replacé dans son aquarium se réveille presque aussitôt.

L'hypophysectomie pratiquée de cette façon demande quelques minutes. On enlève les points au bout de 48 heures ; la cicatrisation complète, ne nécessitant plus de nettoyage de la plaie, est très rapide (3 à 4 jours). Une semaine après l'intervention l'animal a parfaitement récupéré ses mouvements operculaires et oculaires. La mortalité post-opératoire est très faible (moins de 5 % sur plus de 450 opérés).

4°) Castration (Fig. 4, p. 11). -

La longueur des gonades, associée à la présence de plaques dermiques (fig. 3, p. 9), rend assez délicate la castration chez l'Hippocampe, en ce sens qu'on ne peut la réaliser en un seul temps, mais en trois temps successifs :

-. Légende de la figure 4 : TECHNIQUE DE CASTRATION .-

1 - 2 : Situations des incisions 1, 2, 3 et ablation du sommet des testicules ;

3 - 4 - 5 : Temps successifs de l'ablation de la base des testicules.

a : anus ; a + v v : artère et veine rectale ; ec : écarteur ; p d : plaque dermique ; p op : plaie opératoire ; R : rein ; t ly : tissu lymphoïde ; T D : tube digestif (Rectum) ; t d : testicule droit ; t g : testicule gauche ; u : uretère ; vmes : volet mésentérique ; v u : vessie urinaire.

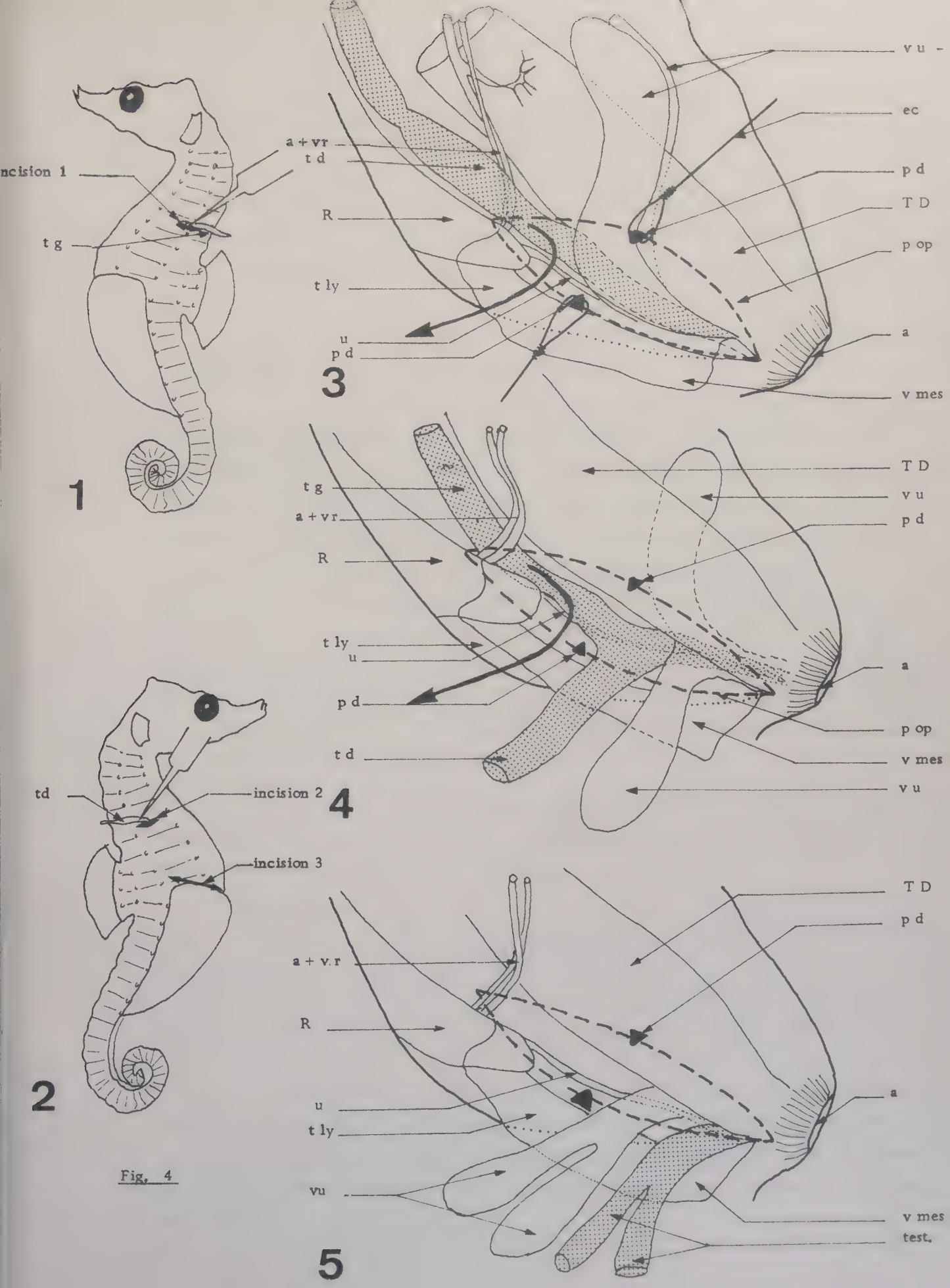

ncision 1
t g
a + vr
t d
R
t ly
u
p d
v u
ec
p d
T D
p op
a
v mes
1
3
T D
t g
v u
a + vr
p d
R
t ly
u
a
p d
p op
t d
v mes
v u
4
td
incision 2
incision 3
2
T D
p d
a + v.r
R
u
t ly
a
vu
v mes
test.
5

Fig. 4

a) L'animal bien anesthésié et convenablement enveloppé dans la gaze humide est fixé sur une cale horizontale, le côté gauche vers l'opérateur. Au sclérotome on fait une boutonnière aussi réduite que possible entre les 8e et 9e plaques latéro-dorsales à la limite de la paroi dorsale de la cavité générale. Avec des pinces fines on libère le sommet de la gonade gauche que l'on tire à l'extérieur jusqu'à la limite de rupture ; on la sectionne alors (sur les ovaires très développés, il est utile de poser une ligature avant la section). La boutonnière est rapidement suturée à la soie de Kalt avec des aiguilles de Barraquer de 12 mm ou de Chailloux de 14 mm.

b) On retourne l'animal, le côté droit vers l'opérateur. On pratique une incision symétrique de la précédente et l'on procède de la même façon.

c) On fait une incision oblique entre les 10e et 11e plaques latéro-dorsales de la région dorsale vers l'anus. On désarticule au couteau de Paufique les deux plaques latéro-dorsales 11/12 et on arrête l'incision à 2 mm de l'anus environ. Deux écarteurs -au moins- maintiennent la plaie béante. On ouvre le péritoine le plus possible vers les régions supérieures et on rabat à l'extérieur le volet mésentérique ainsi déterminé. Avec des pinces fines on fait ensuite glisser à l'extérieur la partie postérieure de la gonade droite ; puis, on y rabat la partie droite de la vessie urinaire ; on saisit juste en arrière du gros tronc de la veine caudale la partie restante de la gonade gauche que l'on attire à soi jusqu'à la zone de jonction des deux gonades ; on détache alors avec précaution la partie terminale du tractus génital, coincée entre le rectum et la vessie urinaire, jusqu'à moins d'un millimètre de l'anus ; on sectionne aux ciseaux de Dowell. Les organes sont soigneusement remis en place, le mésentère notamment, et on suture la plaie avec une attention toute particulière par 2 ou 3 points à la soie de Kalt. Il est très important d'obtenir par un minimum de points une étanchéité absolue. On tamponne à l'eau oxygénée et on replace l'animal dans son aquarium.

A condition de ne guère dépasser 20 minutes d'intervention, les animaux supportent très bien la castration, les mâles mieux que les femelles. La mortalité post-opératoire reste faible (10 %) ; elle est toujours due à une mauvaise cicatrisation de l'incision inférieure.

5°) Stannioctomie. -

Au début de ce travail, au moment de l'exploration des facteurs susceptibles de jouer un rôle dans l'incubation des jeunes, j'ai réalisé un certain nombre de stannioctomies. Bien que l'expérience eût prouvé que les corps de Stannius n'intervenaient en rien (d'apparent) dans les phénomènes incubatoires et que je ne sois pas amené à en parler dans les chapitres suivants, il me paraît utile de donner ici la technique de leur exérèse.

Les dispositions sont les mêmes que pour la castration : l'animal est couché sur le côté gauche et on fait une longue incision partant de la région dorsale (entre les 10e et 11e plaques latéro-dorsales) jusqu'au niveau de l'anus en passant entre les 11e et 12e plaques latéro-ventrales. Avec les écarteurs on maintient la plaie aussi béante que possible. On bascule complètement la table : l'Hippocampe est vertical, la queue tournée vers l'opérateur.

Avec beaucoup de précautions, la base des reins est détachée de la paroi dorsale : on repère les uretères. Il s'agit alors de séparer très doucement les deux lobes des reins au niveau où les uretères émergent et l'on trouve 1 ou 2 corps de Stannius plus ou moins enfoncés dans le tissu rénal. Ils sont extraits à la pince.

A condition de ne pas léser les reins, les animaux supportent très bien l'opération. Sur 11 opérés, un seul est mort d'une mauvaise cicatrisation.

6°) Repérages des stades du développement embryonnaire sur l'animal vivant. -

Pour conduire efficacement un travail expérimental il faut connaître au moins approximativement, le stade de développement des embryons, que ni le volume, ni la forme du marsupium ne permettent de définir.

La méthode la plus précise et à priori la plus simple consisterait à prélever 1 ou 2 embryons dans le marsupium de l'animal d'expérience. Malheureusement, toute intervention directe sur le contenu marsupial, quelles que soient les précautions prises, entraîne presque inéluctablement l'apparition de parturitions partielles prématurées, ce qui condamne l'emploi systématique de ce procédé.

J'ai été ainsi amené à utiliser un dispositif simple qui permet de mirer les marsupiums, comme on mire les œufs, et qui, sans atteindre une grande précision, permet de juger de l'âge des embryons.

Une lampe de microscope éclaire violemment un miroir incliné à 45° au-dessus duquel est placé un support percé d'un petit orifice en son centre (diamètre 1 cm). Ce système est clos pour empêcher les éclairages latéraux parasites et le tout est mis dans une enceinte obscure. On voit ainsi le marsupium par transparence ; l'opacité des embryons et du contenu marsupial augmente au cours de l'incubation et j'ai pu établir une échelle, qui groupe de la façon suivante les stades successifs du développement embryonnaire (décrits page 116) :

Stades 1 - 2 - 3 :	Marsupium rose clair, translucide, homogène ;
Stades 4 - 5 :	Alvéoles visibles, petits, bien ronds, marsupium plus foncé ;
Stades 6 - 7 - 8 - 9 :	Alvéoles bien visibles, aspect granuleux clair du contenu marsupial ;
Stades 10 - 11 - 12 :	Aspect granuleux bien marqué, alvéoles très visibles, contenu marsupial rose foncé, quelques points foncés (yeux) ;
Stades 13 - 14 :	Alvéoles et points noirs (yeux) très marqués ;
Stades 15 - 16 - 17 :	Alvéoles, yeux très distincts, corps visibles sous forme de virgules opaques ;
Stades 18 - 19 - 20 - 21 :	Opacité croissante avec les stades ; les embryons d'abord bien visibles, puis de moins en moins, s'agitent beaucoup.

7°)Injections d'hormones. -

Toutes les injections ont été intra-péritonéales, faites à l'aide de la seringue à insuline permettant d'apprécier le 1/40e de cm^3, munie d'aiguilles 40 - 5/10 à biseau court. Leur longueur, leur souplesse permettent de passer à travers les muscles latéro-dorsaux sur une certaine longueur, ce qui empêche, au retrait de l'aiguille, le reflux du liquide injecté.

8°) Histologie. -

a) Techniques générales. -

Les animaux sont toujours sacrifiés vivants par décapitation et immédiatement découpés en trois parties : une région cardiaque et branchiale antérieure renfermant la thyroïde et l'interrénal, une région moyenne contenant les glandes génitales, une région postérieure intéressant le marsupium des mâles, ou la région homologue des femelles. Les deux premières sont ouvertes aux ciseaux sur la ligne médio-ventrale et les marsupiums vides des mâles sont remplis à la seringue du liquide fixateur choisi ; puis l'ensemble est immergé dans le fixateur. Après lavage les différents organes intéressants sont soigneusement disséqués. Les fixateurs les plus employés ont été le Bouin trichloracétique, le Bouin-Allen, le Bouin-Hollande, le Susa, le Zenker. Les déshydratations ont été faites de préférence à l'alcool butylique ; les inclusions à la paraffine ont été coupées à 5, 6 et 7 µ.

Certaines régions contenant des écussons dermiques extrêmement calcifiés, ou les crânes in toto, subissent, après traitement par différents mélanges décalcifiants, une double inclusion celloïdine-paraffine.

Les colorations les plus utilisées ont été l'Azan, les trichromiques de Masson ou de Prenant, l'hématoxyline de Groat-éosine, la trioxyhématine de Hansen, associée au safran ou au picro-indigocarmin, ou au picro-ponceau. Certaines colorations nucléaires ont été faites au Feulgen ou à la gallocyanine, avec ou sans coloration de fond au picro-indigocarmin. Certaines coupes de thyroïde, d'interrénal ou de marsupium ont été colorées au PAS-hématoxyline de Groat ; la fuchsine paraldéhyde a été utilisée pour rechercher les fibres élastiques dans le tissu conjonctif marsupial.

b) Lipides du tissu interstitiel du testicule. -

Les testicules sont fixés au Baker ou au Baker-Cadmium ; inclus à 37°C dans la gélatine et coupés au microtome à congélation à 10 µ. Les lipides sont mis en évidence par le noir Soudan à 60°. Les coupes sont montées au sirop d'Apathy.

c) Mitochondries. -

J'ai cherché à mettre en évidence les mitochondries du tissu interstitiel du testicule en fixant les pièces soit au Regaud, suivi d'une postchromisation, soit au Benoît à 4°. Les coupes sont faites à 4 µ, puis colorées soit à l'hématoxyline de Regaud, soit à la fuchsine d'Altmann, techniques de Gabe au picrate de vert de méthyle ou de Volkonsky.

d) Hypophyse. -

Les cerveaux sont soigneusement disséqués après décapitation de l'animal vivant et fixés 72 heures dans le fixateur de Herlant sans acide acétique. Après inclusion à la paraffine, les coupes sont faites à 4 ou 5 µ et colorées par les méthodes classiques : Azan pour la topographie générale, fuchsine paraldéhyde, PAS-Orange G, Bleu Alcian-PAS-Orange G, Cleveland-Wolfe, tétrachrome de Herlant, hématoxyline au plomb de Mac-Connaill.

9°) Méthodes caryométriques. -

Une partie importante des résultats exposés au cours de ce travail repose sur des études caryométriques, c'est-à-dire surtout sur la mesure de la densité et du diamètre nucléaires moyens.

J'ai presque toujours (1) procédé de la manière suivante :

a) Diamètre nucléaire moyen. -

Les diamètres sont dessinés à la chambre claire et à fort grossissement (en général : obj. 60, oc. 12,5, ce qui conduit à un grossissement réel de 2 500) et mesurés au 1/10e de μ près. Pour chaque animal, ou chaque organe , on fait suivant les cas 50, 100 ou 200 mesures, dont on calcule la moyenne et son écart-type. On néglige les coupes tangentielles des noyaux et on ne retient que celles où le nucléole (généralement très apparent) est bien visible.

En possession de l'écart-type, on calcule en fonction du nombre de données l'intervalle de confiance pour P = 0,05. Cet intervalle de confiance sera représenté graphiquement sur les diagrammes.

Dans les cas douteux, j'utilise l'analyse de variance, rapportée aux valeurs de F = 0,05.

b) Densité nucléaire moyenne. -

Je compte le nombre de noyaux contenus dans la surface délimitée sur la coupe par 10 carrés du micromètre oculaire au grossissement utilisé (obj. 40, oc. micrométrique XII, ce qui correspond à 10 fois 16 x 16 μ environ, soit 2 560 μ^2). On effectue par animal de 5 à 10 mesures (50 à 100 mesures élémentaires) à des niveaux différents du massif cellulaire. On calcule la moyenne et son écart-type.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

(1) Dans les quelques cas où je n'ai pas procédé de la façon standard décrite, je le signale dans le compte-rendu de mes observations.

-. Chapitre II. -

ETUDE DU CYCLE SEXUEL CHEZ L'HIPPOCAMPE

-:-:-:-:-:-:-:-:-

I. - ETUDE DES POPULATIONS, CROISSANCE, EPOQUE DE REPRODUCTION. -

Il était essentiel pour comprendre les différents aspects de la sexualité des Hippocampes de bien connaître le rythme de leur croissance. Dans la littérature ancienne (HEINCKE, 1880 ; LO BIANCO, 1888-1899 ; DUNCKER, 1900 ; RAUTHER, 1925) les renseignements donnés sont rares, imprécis et faits surtout de suppositions : tous ces auteurs sont d'accord pour estimer rapide la croissance des Hippocampes. Récemment Van HOUTTE (1960) relatant la réussite d'un élevage en aquarium, à partir de la naissance, d'Hippocampes "méditerranéens"signale qu'ils atteignent 4,5 cm en "5 à 6 mois et 8-10 cm en 8 mois. Les difficultés de l'élevage des nouveau- nés en aquarium, jointes aux influences possibles d'une stabulation au laboratoire, rendant cette méthode impossible à envisager, j'ai essayé de résoudre la difficulté en étudiant l'évolution de populations pêchées chaque mois dans la nature.

1°) Mensurations (Fig. 5, p. 18).-

La forme de l'Hippocampe, en raison de la courbure cervicale au niveau des vertèbres 4 - 5 et de la queue préhensile toujours plus ou moins enroulée, se prête mal aux mesures de longueur totale. La plupart des auteurs cependant en parlent sans préciser comment ils la mesurent. RAUTHER (1925) dans sa monographie parle tantôt de distance "Scheitel-Schwanz krümmung", ou de "Rumpflänge" sans dire exactement ce qu'il entend par là.

J'ai choisi comme mensuration principale des animaux au cours du présent travail " la longueur du tronc" L, définie comme étant la distance qui sépare le sommet de l'apophyse de l'écusson dermique latéro-supérieur III du sommet de l'apophyse de l'écusson latéro-supérieur XIV.

J'ai appelé "longueur de la tête" l, la distance qui sépare l'extrémité du museau (mesurée du sommet de la mandibule, bouche fermée) au sommet de l'apophyse de l'écusson dermique latéro-supérieur III.

La longueur de la queue (lq) est la distance du sommet de l'apophyse du XIVe écusson dermique latéro-dorsal à l'extrémité de la queue.

Toutes ces mesures sont faites au compas à pointes sèches ou au pied à coulisse et arrondies au demi- millimètre. La somme L + l + lq est égale à la longueur totale de l'animal et permet ainsi de comparer éventuellement mes mesures à celles des auteurs. Cependant, que l'animal soit vivant ou mort, la queue est toujours enroulée sur elle-même et la longueur est très difficile à mesurer de façon satisfaisante. Aussi, j'ai cherché à calculer le rapport éventuel entre L et lq. Ce rapport est remarquablement constant pour une espèce et un sexe donnés, comme en témoigne le tableau 1.

Espèce	Sexe	Nombre d'individus	Moyenne $\frac{L}{lq}$
H. guttulatus	mâle	108	0,475 ± 0,02
	femelle	63	0,482 ± 0,06
H. hippocampus	mâle	71	0,461 ± 0,04
	femelle	42	0,467 ± 0,08

-. TABLEAU 1 .-

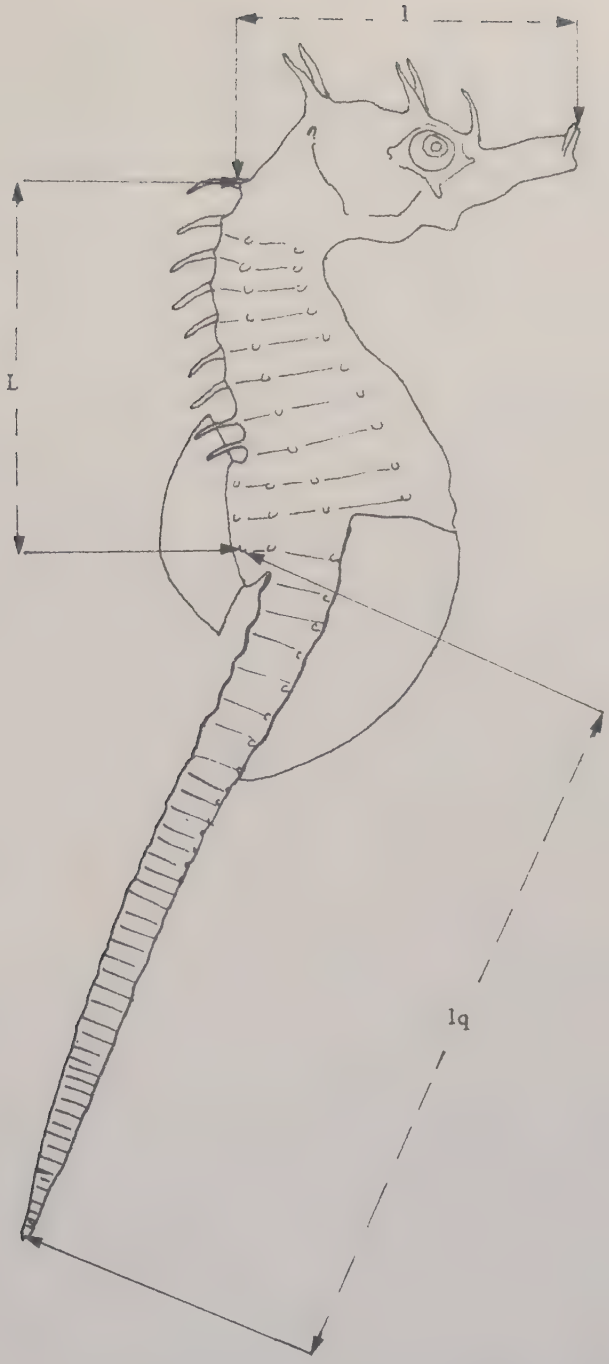


Fig. 5 : Mensurations de l'Hippocampe

l : longueur de la "tête
L : longueur du "tronc"
lq : longueur de la "queue".

Il existe donc une relation particulièrement étroite entre les longueur L et lq et la connaissance de L permet d'apprécier lq avec une précision entièrement satisfaisante pour nos besoins.

2°) Croissance. -

J'ai employé la méthode suivante :

1°) Tous les mois un échantillon de population benthique est pêché au chalut dans son milieu naturel. Il comprend 150 individus (fin du printemps, été, automne) et 50 (hiver, début du printemps).

2°) A partir du début de la reproduction, des pêches planctoniques avec des filets à grandes mailles (2 x 2 mm) permettent de recueillir les individus flottant en pleine eau.

3°) On mesure la longueur du "tronc" de tous les individus et on la reporte sur papier semi-logarithmique en plaçant les mois en abscisses et les tailles en ordonnées (Fig. 6, p. 20).

4°) Il ne faut pas oublier surtout que durant toute la période de reproduction, il existe un grand nombre de nouveau-nés qui ne sont pas capturés.

L'examen du diagramme ainsi obtenu montre que la répartition des individus se fait mensuellement par classes de taille et que l'on peut relier ces classes entre elles d'un mois à l'autre, c'est-à-dire établir la courbe de croissance d'une population d'Hippocampes mise au monde à un moment donné.

Par exemple, un Hippocampe mâle né en juin (L = 4 mm) double sa taille 1 mois plus tard (L = 7,5 - 8 mm), la double encore au moins le mois suivant ($14 < L < 18$ mm), où il cesse d'être planctonique ; on le retrouve nettement plus grand (L = 20 - 22 mm) en septembre dans les herbiers à Zostères. A partir de cet instant la croissance, qui avait été extrêmement rapide, deviendra beaucoup plus lente pendant l'hiver et acheminera l'animal vers sa taille d'adulte (L = 32 mm) qu'il atteindra en juin au moment d'incuber

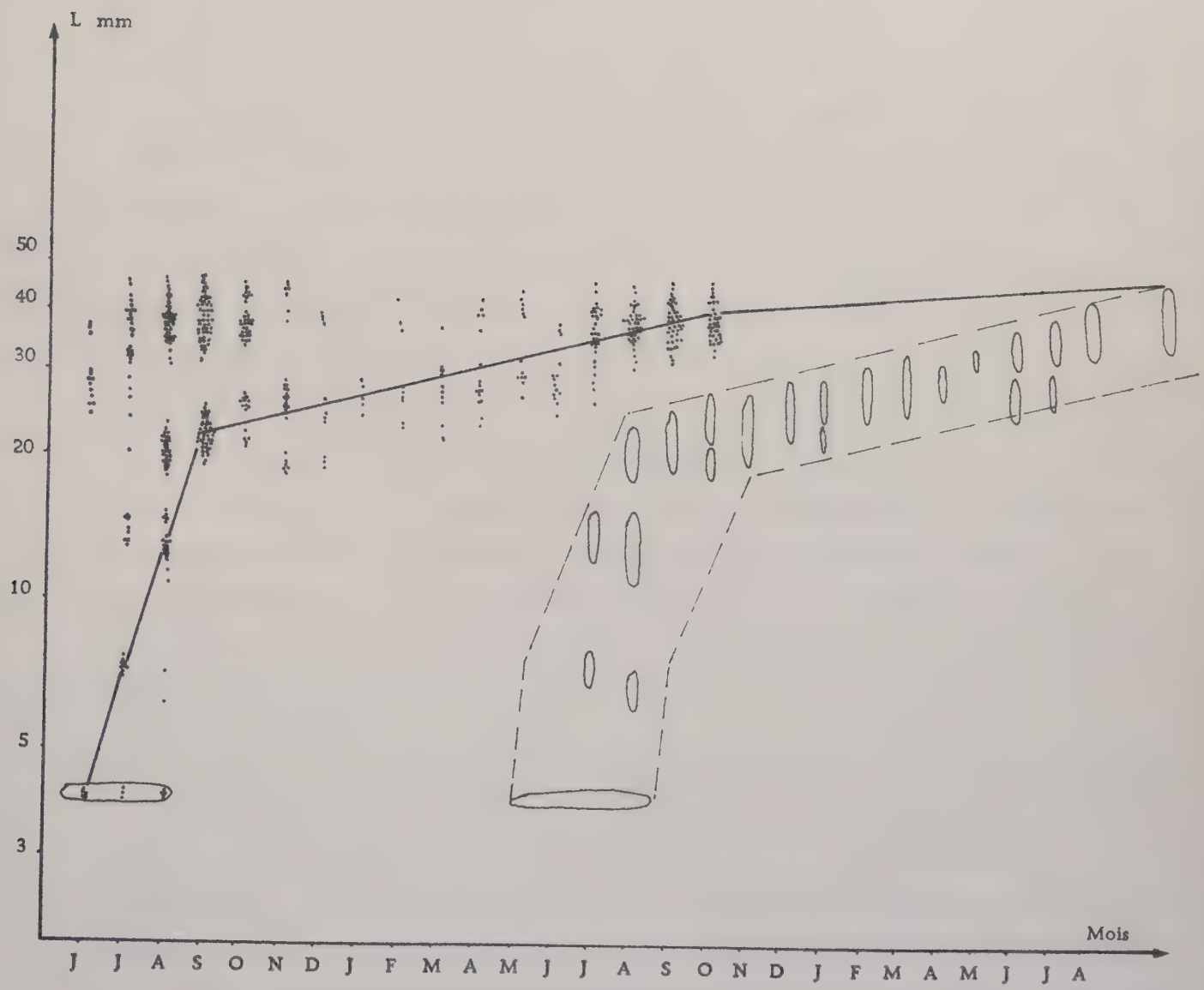


Fig. 6 : Croissance globale de l'Hippocampe

(Coordonnées semi-logarithmiques)

les embryons ; la croissance continue régulièrement jusqu'en octobre (35 mm $\leq$ L $<$ 40 mm). A partir de ce moment et pour le reste de son existence l'Hippocampe ne grandira plus que très peu ainsi que l'indique la rareté des longueurs de tronc supérieures à 48 mm.

On peut donc dire qu'un Hippocampe né en juin mène une vie planctonique pendant environ 8 semaines durant lesquelles sa croissance est extrêmement rapide, puis il devient benthique et sa croissance se ralentit fortement ; il atteint la maturité génitale au bout de 10 à 12 mois.

J'ai pris l'exemple d'un animal né en juin. En réalité, les naissances sont étalées du 15 mai au 15 septembre en moyenne, avec un maximum en juin et juillet. Il est bien évident que cette dispersion des naissances retentira sur la croissance des individus, surtout pour les néonates tardifs qui subiront les mauvaises conditions vitales de l'automne et de l'hiver pendant le début de leur existence. Il en résulte une dispersion des tailles surtout vers les dimensions inférieures, expliquant la possibilité de trouver en été des Hippocampes mâles relativement petits (L = 23 - 24 mm) en incubation. A notre avis ce sont les derniers nés de la période de reproduction précédente, qui ont peu grandi, mais acquis cependant la maturité génitale.

On ne trouve pas dans la littérature des renseignements précis sur la longévité des Hippocampes. RAUTHER (1925) reprenant les observations de LO BIANCO (1899) et de DUNCKER (1908) sur les Syngnathes et les étendant aux Hippocampes, estime qu'une proportion importante des mâles meurt après la première incubation et que de toute façon il ne survivent pas à la seconde ; ainsi la longévité moyenne des Hippocampes serait de un ou deux ans au maximum.

Cette opinion me paraît erronée. Tout d'abord dans les populations pêchées après la période d'incubation la sex-ratio reste normale, comme pendant le reste de l'année, ce qui ne serait pas le cas, s'il y avait mort sélective des mâles. De plus la proportion d'adultes de grande taille (L $>$ 35 mm) y est toujours très importante et ces animaux ont certainement plus

d'un an. En outre, l'observation de centaines d'Hippocampes après l'incubation, m'a convaincu que chez ces animaux la reproduction n'entraînait pas inéluctablement la mort : les populations étudiées restent parfaitement normales, tant dans leur comportement que dans la structure histologique de leurs tissus et organes ; elles ne montrent ni troubles profonds, ni cachexie particulière.

D'autre part l'étude histologique des ovaires des femelles permet d'apprécier leur âge. Il existe en effet dans ces ovaires des follicules atrétiques dont l'involution aboutit à la formation de structures particulières en forme de couronnes emboitées, restes de la thèque et de la granulosa (voir page 73). Ce stade ultime de l'atrésie ovulaire est atteint en quelques mois il est appelé vraisemblablement à disparaître, mais le fera de façon extrêmement lente, en plusieurs années. On peut reconnaître ainsi, contre la paroi ovarienne, des ilôts de structures de plus en plus dégénérées, qu'on peut classer en catégories successives. Etant donné que l'atrésie est un phénomène annuel, on peut ainsi, à partir du nombre de catégories d'involution recensées juger approximativement de l'âge de l'animal chez les grandes femelles ($L \geq 48$ mm) ; j'ai pu ainsi reconnaître sûrement 3, peut-être 4, catégories de follicules atrétiques très involués ; ces femelles auraient donc 4 ou même 5 ans ; on peut donc penser que les mâles de même taille ont au moins le même âge car ils sont à âge égal (1 an) moins grands que les femelles.

En conclusion, j'estime que la durée moyenne de vie des Hippocampes est au moins de 3 ans et plus vraisemblablement de 4 ans, mais qu'il n'est pas rare de trouver de grands individus qui doivent avoir dépassé cet âge.

3°) Croissance relative de la "tête" et du "tronc" (Fig. 7, p. 23). -

Les courbes représentent l'étude en coordonnées logarithmiques de la croissance relative de la "tête" et du "tronc" chez H. guttulatus mâle et femelle et chez H. hippocampus mâle. Très semblables entre elles, elles appellent les commentaires suivants :

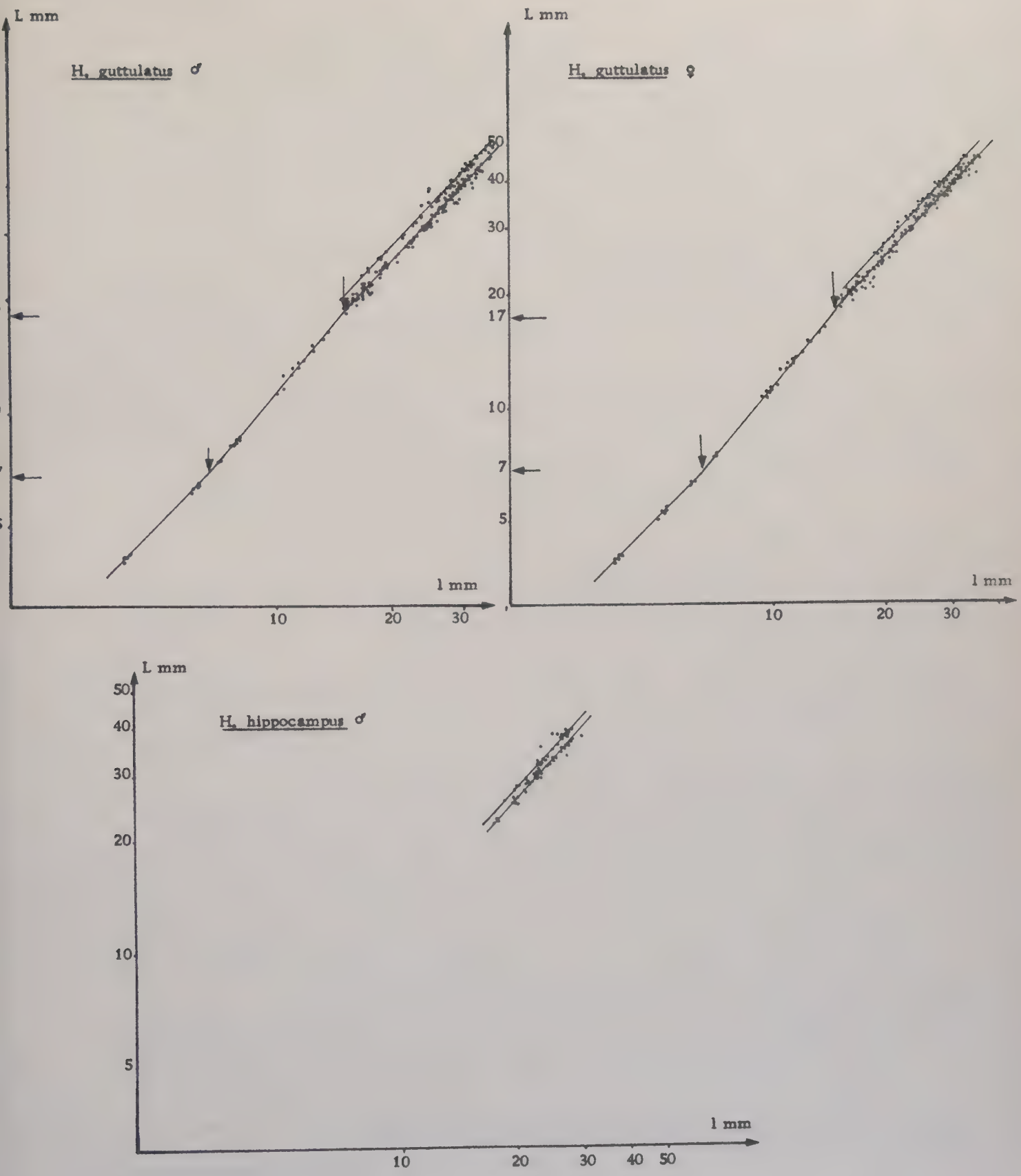


Fig. 7 : Croissance relative de la "tête" et du "tronc" chez l'Hippocampe.

- Dans les limites des mensurations faites, on distingue deux points d'inflexion, l'un à 7 mm de longueur du tronc, l'autre à 17 mm. Nous reviendrons sur ce point (page 51), mais on peut dire tout de suite que le premier signale l'apparition de la différenciation génitale et le second le passage de la vie planctonique à la vie benthique.

- Au début ($4 < L < 7$ mm) la croissance est pratiquement isométrique ($k = 1,05$), puis ($7 < L < 17$mm) devient fortement majorante ($k = 1,2$) ensuite ($17 < L < 41$ mm) plus faiblement ($k = 1,08$).

- Les courbes sont fondamentalement semblables pour les deux sexes et les deux espèces ; les femelles cependant atteignent plus nombreuses une taille plus forte, et, d'autre part, les mensurations moyennes d'H. hippocampus sont inférieures à celles d'H. guttulatus.

- Chacune de ces courbes présente dans sa partie supérieure ($L > 20$ mm) un dédoublement indiscutable. Tout se passe comme si l'on était en présence de deux catégories d'individus : la plus importante, que l'on peut considérer comme normale, et une autre moins abondante, représentée par des individus au tronc plus long et à la tête trop courte. De tels animaux se reconnaissent facilement lorsqu'on les manipule.

Tout se passe comme si une population hybride aux proportions intermédiaires était mêlée aux deux populations normales, mais aucune observation ne m'a permis d'étayer davantage l'hypothèse d'une hybridation possible entre les deux espèces.

4°) Epoque de reproduction. -

D'après LO BIANCO (1888 et 1899), les Hippocampes méditerranéens déposent leurs œufs en mai et juin et incubent en juin et août. Il signale en outre, avoir trouvé un mâle incubant le 11 janvier.

RAUTHER (1925) réduit la période de reproduction aux seuls mois de juin et juillet.

A Arcachon, à part de légères fluctuations annuelles dues très vraisemblablement à des facteurs climatiques, on trouve des mâles incubants du 20 mai au 15 septembre, mais en proportions très variables.

Le tableau 2 donne quelques résultats de pêches effectuées entre juin et septembre de la même année.

Date	Mâles non incubants	Mâles incubants	Population totale	% de mâles incubants par rapport à la population totale
10/6	74	3	77	4
25/6	62	32	94	34
10/7	74	48	122	39
16/7	73	51	124	41
26/7	74	54	128	42
30/7	69	37	106	35
8/8	107	10	117	9
6/9	89	4	93	4

-. TABLEAU 2 .-

On peut dire que dans l'ensemble, la période de reproduction dure un mois et demi, du 15 juin au 31 juillet, au cours de laquelle environ 40 % des mâles pêchés incubent. Avant et après ces dates, on trouve bien des mâles en incubation, mais en quantité beaucoup plus faible. En outre, il existe une légère différence spécifique, la durée de l'époque de reproduction d'H. hippocampus est plus longue que celle d'H. guttulatus. En effet, les premiers individus incubants trouvés fin mai et les derniers pêchés début septembre sont exclusivement des H. hippocampus, alors qu'on ne trouve pour ainsi dire aucun H. guttulatus en incubation avant le 15 juin ni après le 15 août.

II.-ETUDE DU CYCLE MALE - STRUCTURE DU TESTICULE - SPERMATOGENESE. -

1°) Morphologie du testicule (Fig. 8 et 9, p. 27 et 29).-

Chez l'Hippocampe les testicules se présentent sous la forme de longs et minces tubes cylindriques pairs, logés contre la paroi dorsale de la cavité générale. Leur sommet est inséré au niveau de la vessie natatoire (à hauteur de la plaque dermique latéro-marginale VIII). De là, ils se dirigent vers l'anus, d'abord étroitement appliqués contre la paroi dorsale jusqu'au niveau de la XIe plaque latéro-dorsale, puis, ils s'incurvent presque à l'horizontale pour aller rejoindre l'anus, situé un peu en dessous de la XIIe plaque latéro-moyenne. Peu avant lui, ils fusionnent en un tube unique, court, stérile, le spermiducte, qui s'ouvre en biseau dans le proctodœum entre les uretères et l'anus.

Au cours de la vie de l'animal, la morphologie externe du testicule variera peu. Il ne montrera jamais d'accroissement spectaculaire de diamètre, non plus que d'allongement remarquable, et cela sans doute en relation avec les modalités mêmes de la reproduction qui n'implique pas l'utilisation d'énormes quantités de spermatozoïdes. Cependant, il est le siège au cours de la maturité sexuelle d'un certain allongement qui se traduit, entre les deux insertions supérieure et inférieure fixes, par une forme un peu ondulée ou bosselée. Toutefois, les variations seront faibles et les mensurations que j'ai faites soit de la longueur, soit du diamètre, restent peu significatives de l'état sexuel du testicule.

2°) Anatomie histologique. -

Les descriptions existantes sont toutes anciennes et sommaires (Von SIEBOLD, 1842 ; MARCUSEN, 1872 ; BROCK, 1878 ; JUNGERSEN, 1889 ; HUOT, 1902 ; RETZIUS, 1910 ; RAUTHER, 1925) bien que le testicule des Hippocampes et des Syngnathidés d'une manière générale représente un cas particulier, à ma connaissance, parmi les testicules de Téléostéens.

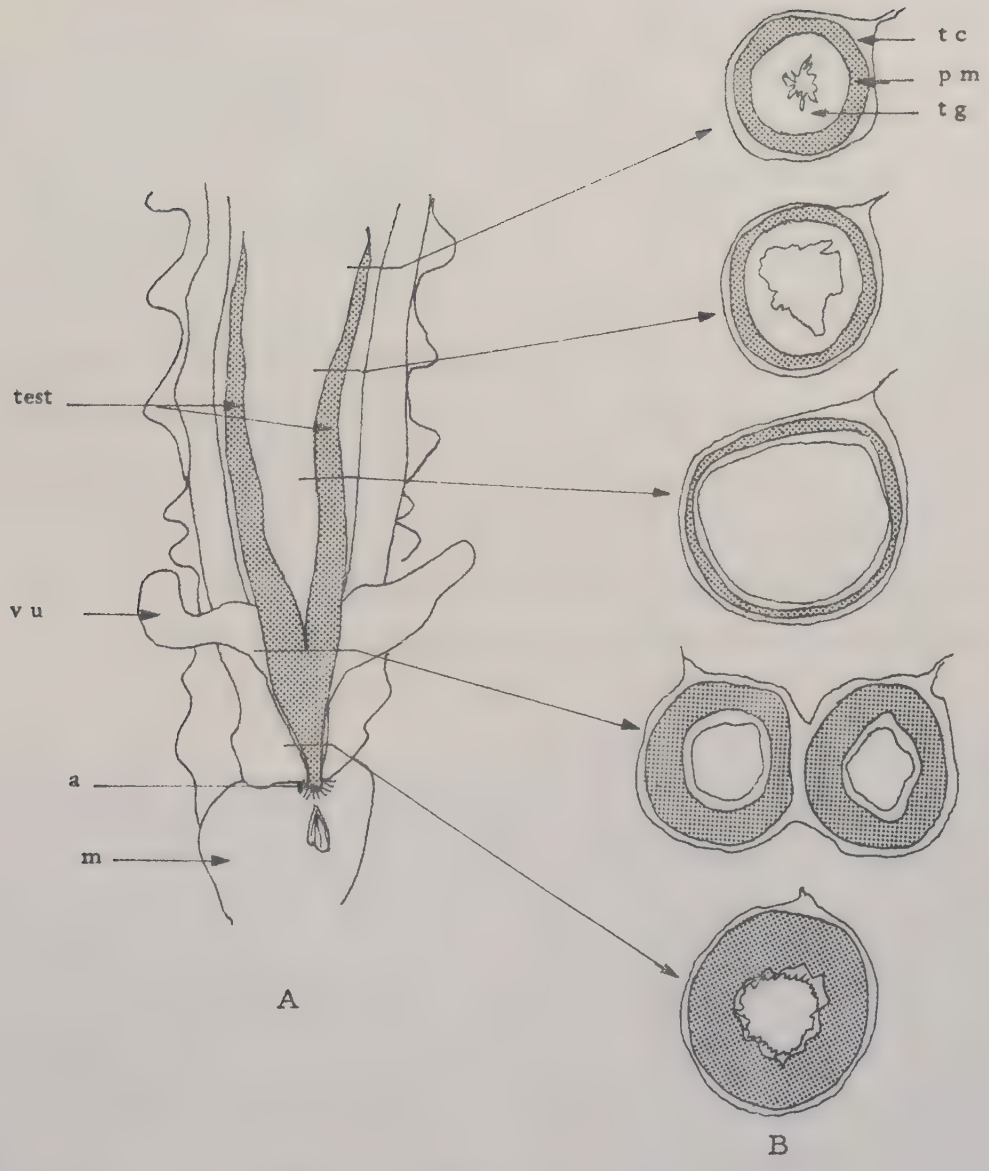


Fig. 8 : Schémas de la structure du testicule

A - Forme générale
B - Structure de coupes transversales faites à différents niveaux.

a : anus ; m : marsupium ; p m : paroi musculaire du testicule ;
test : testicule ; t c : tissu conjonctif ; t g : tissu germinal ;
v u : vessie urinaire.

En effet, au lieu d'être un organe assez massif formé de la juxtaposition d'un grand nombre de tubules ou de cystes séminifères emballés dans du tissu conjonctif plus ou moins développé, le testicule de l'Hippocampe se présente comme un tube séminifère unique occupant toute la région centrale du testicule et directement entouré par la paroi de l'organe. On trouve de l'extérieur vers l'intérieur :

a) une paroi testiculaire, à peu près circulaire, formée 1°) d'une couche conjonctive externe assez dense ; 2°) d'une région moyenne musculaire lisse, plus ou moins développée et infiltrée de tissu conjonctif ; 3°) d'une couche interne très étroite de tissu conjonctif limitée du côté de la lumière testiculaire par une vitrée extrêmement mince. Elle comporte, en outre de nombreux capillaires sanguins surtout dans la couche conjonctive externe, en particulier au niveau du mésorchium, et dans la couche conjonctive interne ;

b) le tissu génital à différents stades de maturation des gamètes, en général appliqué, sous la forme d'une bandelette plus ou moins étroite, contre la vitrée de la couche interne de la paroi.

L'importance du développement de la couche musculaire est variable suivant la région envisagée de l'organe. On peut reconnaître du sommet à la base du testicule 3 zones successives qui correspondent assez grossièrement à une spécialisation dans l'élaboration des produits sexuels :

1°) dans le quart antérieur du testicule, la couche musculaire est relativement forte et le tissu génital dense remplit presque totalement la lumière du tube. C'est dans cette région que se fait le plus activement la multiplication des premiers stades de la spermatogenèse.

2°) la moitié moyenne a une paroi musculaire très faible, le testicule atteint là son plus grand diamètre, le tissu génital est toujours présent sous forme d'une bandelette étroite pariétale ; dans cette zone se fait surtout la maturation et l'accumulation des produits génitaux jusqu'au stade spermatide.

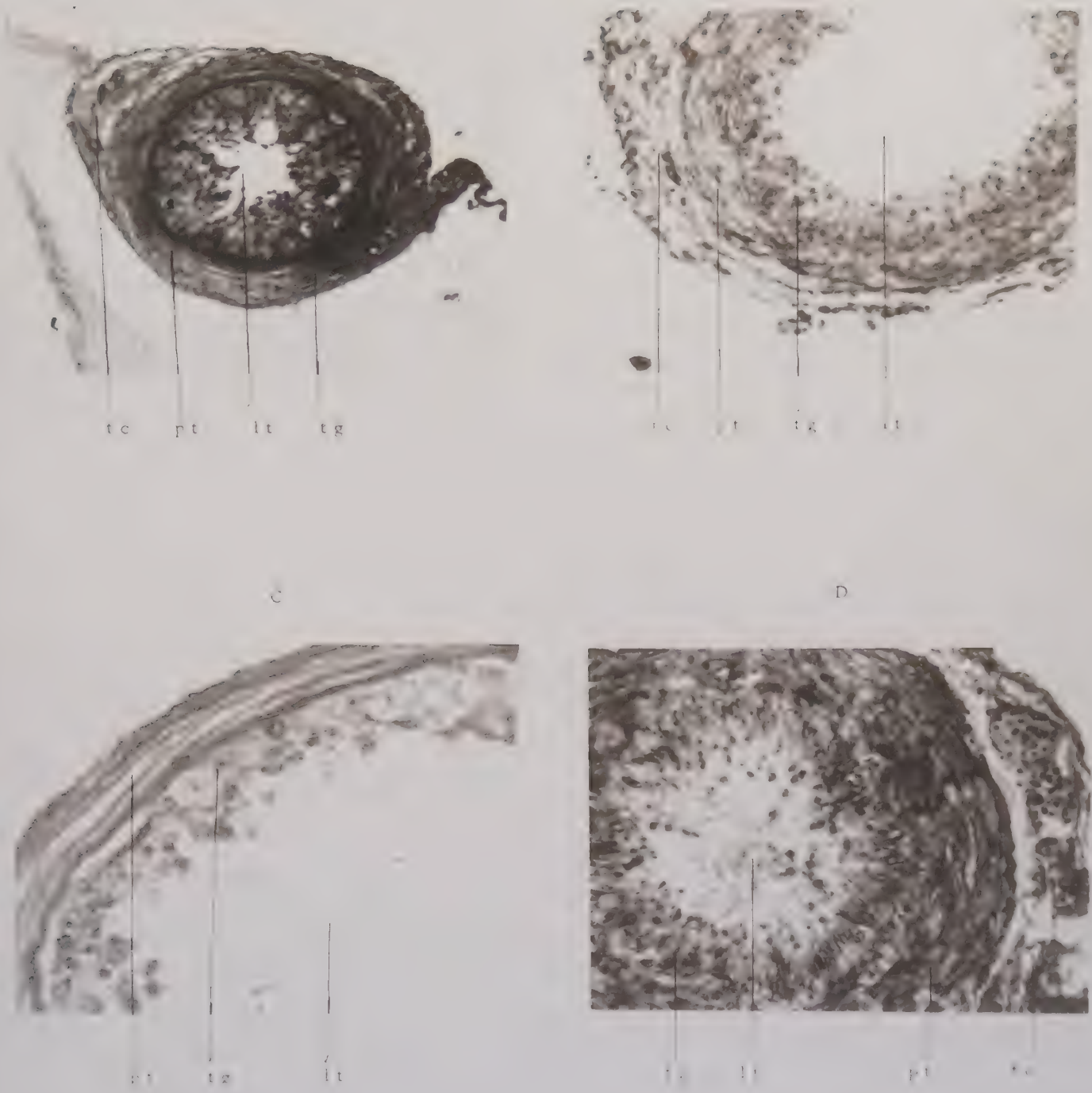


Fig. 9 : STRUCTURE DU TESTICULE (Coupes transversales)

A : Au sommet (x 130)
B : Au tiers antérieur (x 130)
C : Au milieu (x 130)
D : tiers postérieur (x 130)

: tissu conjonctif ; l t : lumière testiculaire ; p t : paroi du t

3°) enfin, le quart inférieur présente une paroi musculaire très forte faite de fibres circulaires et de fibres obliques presque longitudinales. Dans cette zone se fait électivement la spermiogenèse et on y trouve des bouquets de spermatozoïdes fixés dans le syncytium sertolien. En outre, l'épaisseur considérable de la couche musculaire à ce niveau plaide en faveur d'un rôle actif dans l'expulsion des spermatozoïdes mûrs.

3°) Les éléments génitaux. -

La description détaillée des différents éléments sexuels d'un testicule de Téléostéen et de leur évolution annuelle n'a été faite en définitive que pour un nombre restreint d'espèces où ne figure pas l'Hippocampe ; les plus complètes sont celles de TURNER (1919) sur Perca flavescens, de FOLEY (1926) sur Umbra limi, de HANN (1927) sur Cottus bairdii, de VAUPEL (1929) sur Lebistes reticulatus, de CRAIG-BENNETT (1931) sur Gasterosteus aculeatus, de BENNINGTON (1936) sur Betta splendeas, de GRYAZEVA (1936) sur Abramis brama, de BULLOUGH (1939) sur Phoximus lœvis, de JONES (1940), sur Lepomis macrocheirus et Huro salmoïdes, de VIVIEN (1941) sur Gobius paganellus, de WEISEL (1943) sur Oncorhynchus nerka, de PILATI (1950) sur Gobius ophiocephalus, de COOPER (1952) sur Pomoxis et de ROBERTSON (1958) sur Salmo trutta.

Il ressort de l'ensemble de ces travaux que les éléments génitaux groupés en cystes évoluent de façon synchrone, en général très rapide, conduisant à l'apparition dans le testicule d'une masse énorme de spermatozoïdes qui l'emplissent en entier, masquant les spermatogonies primordiales, seuls autres éléments sexuels restants. Après l'expulsion de ces spermatozoïdes, le testicule vidé passe par une phase de repos plus ou moins longue. Le seul point de divergence entre les auteurs porte sur la nature des éléments sexuels de plus grande taille présents dans la glande ; s'agit-il des spermatogonies comme l'affirment TURNER, HANN, BULLOUGH, ROBERTSON, COOPER, PILATI, FOLEY, JONES ou des spermatocytes primaires (CRAIG-BENNET et GRYAZEVA), ou encore leur taille est-elle équivalente (WEISEL)?

Chez l'Hippocampe, on trouve évidemment dans les testicules les différents stades classiques de l'élaboration des gamètes : spermatogonies, spermatocytes, spermatides, spermatozoïdes. Cependant par un certain nombre de caractères, la spermatogenèse de l'Hippocampe diffère quelque peu du schéma général.

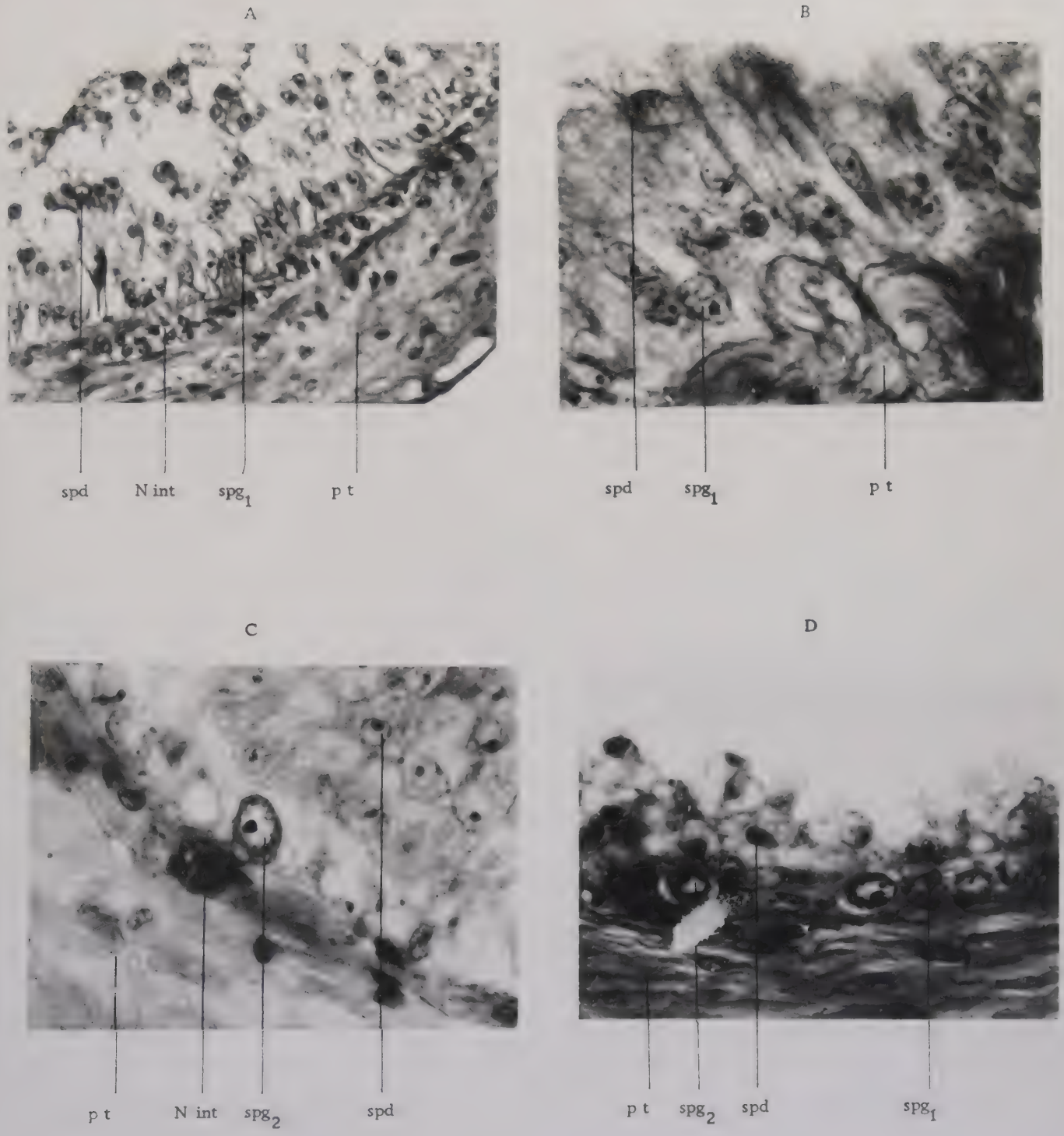
a) Les spermatogonies primaires ou cellules germinales primordiales : spg_1 (Fig. 10, p. 32). -

Elles existent dans les testicules en permanence, mais de mars à juin elles sont peu nombreuses, dispersées et enfouies dans les autres stades de la spermatogenèse. Elles occupent toujours une position marginale, contre la paroi testiculaire. Après une phase de repos, elles se multiplient activement puis entrent dans une période de croissance assez longue. Elles se présenteront donc sous 3 aspects assez différents :

1 - Spg_1 au repos : ce sont des cellules de taille assez uniforme ayant un noyaux dont la taille oscille entre 7,2 et 9,3 µ (8,5 µ en moyenne). Le cytoplasme est bien visible, hyalin ou très finement granuleux. Le noyau est sphérique ou ovale avec un nucléole assez grand (quelquefois deux, plus petits), fortement colorable, appliqué contre la membrane nucléaire. La chromatine, répartie en grains fins, est régulièrement distribuée à l'intérieur du noyau.

2 - Spg_1 après multiplication : les noyaux et la cellule sont beaucoup plus petits, le cytoplasme est réduit, serrant de près la membrane nucléaire. Les noyaux sont nettement allongés et de forme un peu irrégulière, leur diamètre principal oscillant autour de 7,4 µ. Certains portent une indentation déjà signalée par TURNER (1919) chez les spermatogonies de la Perche. La chromatine sous forme de grains assez petits, mais bien visibles, forme par endroits quelques nodosités discrètes et confère un aspect grisâtre aux noyaux. Le nucléole assez gros est fortement colorable et très visible.

3 - Spg_1 à la fin de la période de croissance : elles ressemblent beaucoup aux spg_1 au repos par l'allure générale : le cytoplasme est assez abondant,



-. Fig. 10 .-

A : Apparition des spermatogonies 1 en nombre important (septembre (x 510)

B : Spermatogonies (x 1275)

C : Spermatogonies 2 (x 1275)

D : Spermatogonies 1 et 2 (x 1275)

N int : noyau du tissu interstitiel ; p t : paroi testiculaire ; spd : spermatides ; spg_1 : spermatogonies 1 , spg_2 : spermatogonies 2.

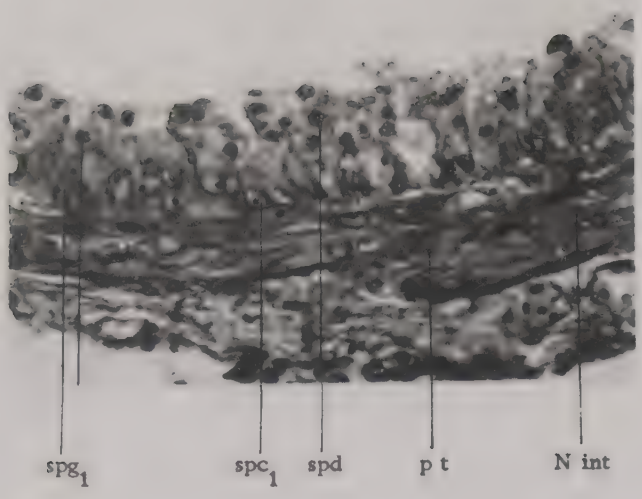
finement granuleux, les limites cellulaires sont distinctes ; le noyau sphérique ou ovale est grand (moyenne 12, 1 μ), la chromatine en petits grains, donne un aspect dense et homogène au noyau ; il y a 1 (ou 2) grand nucléole en général excentrique.

b) Spermatogonies secondaires : spg_2 (Fig. 10, p. 32). -

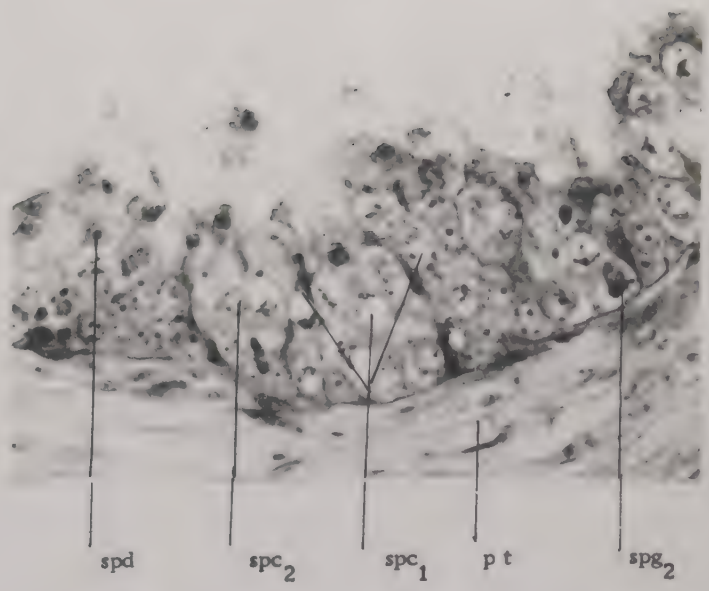
Lorsque les spg_1 ont atteint leur taille maximale, elles vont subir une transformation remarquable en spermatogonies secondaires en tous points semblables à celles décrites par TURNER (1919) chez Perca. Par rapport à la spg_1 à la fin de sa croissance, il apparaît tout d'abord une réduction de taille marquée (elle passe de 12, 1 μ en moyenne à une taille comprise entre 6, 3 et 8, 8 μ) par contraction générale de la cellule entière qui devient, ainsi que son noyau, à peu près sphérique. Les traces qui marquent les limites cellulaires de la spg_1 en fin de croissance sont conservées et il y a un espace entre cette trace et les limites de la cellule qui semble suspendue dans un liquide clair. En même temps, noyau et cytoplasme deviennent plus densément colorables, apparaissant plus foncés que les autres stades qui les entourent ; en outre, on trouve dans le cytoplasme et le noyau des sphérules sombres, assez nombreuses.

TURNER (l. c.) pense qu'il y a un certain nombre (5 à 6) de générations de spermatogonies avant l'apparition des spermatocytes primaires. Cependant ces spg_2 sont toujours assez peu nombreuses chez l'Hippocampe, voisinant d'abord avec les spg_1, puis avec les spermatocytes I (ou les deux) et me semblent n'être par là qu'une période transitoire assez courte. A mon avis, la multiplication des spermatogonies destinée à mettre en place un nombre suffisant des éléments qui donneront les spermatozoïdes se fait au niveau des spg_1 et les spg_2 sont chez l'Hippocampe le signe de la maturité des spg_1 se préparant par une dernière division à donner les spermatocytes primaires. En d'autres termes tant que les spermatogonies se multiplient, elles gardent l'apparence décrite sous le nom de spg_1 et juste avant de donner les spermatocytes primaires elles se transforment profondément et apparaissent alors comme spg_2.

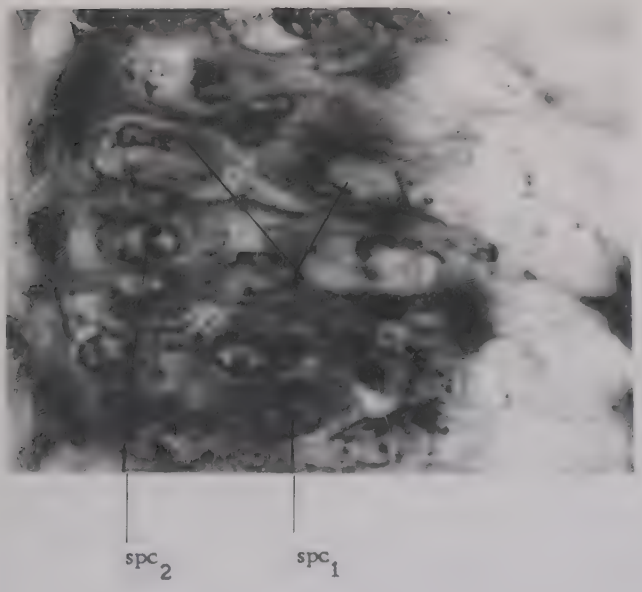
A



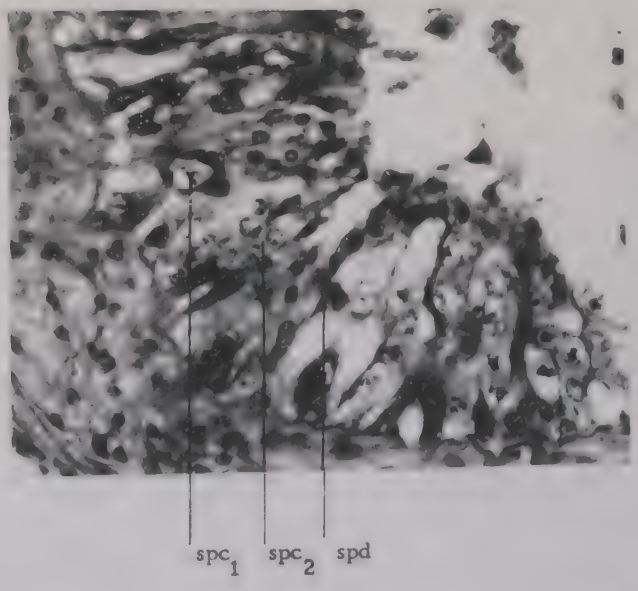
B



C



D



-. Fig. 11 .-

A : Spermatocytes 1 au repos (février (x 330)
C : Spermatocytes 2 (x 1275)

B : Spermatocytes 1 en division (juin) (x 510)
D : Transformation des spermatocytes 1 en spermatocytes 2 (mâle incubant) (x 510)

N int : noyau du tissu interstitiel ; p t : paroi testiculaire ; spg_1 : spermatogonies 1 ; spg_2 : spermatogonies 2 ; spc_1 : spermatocytes 1 ; spc_2 : spermatocytes 2 ; spd : spermatides.

c) Les spermatocytes primaires : spc_1 (Fig. 11 et 12, p. 34 et 36). -

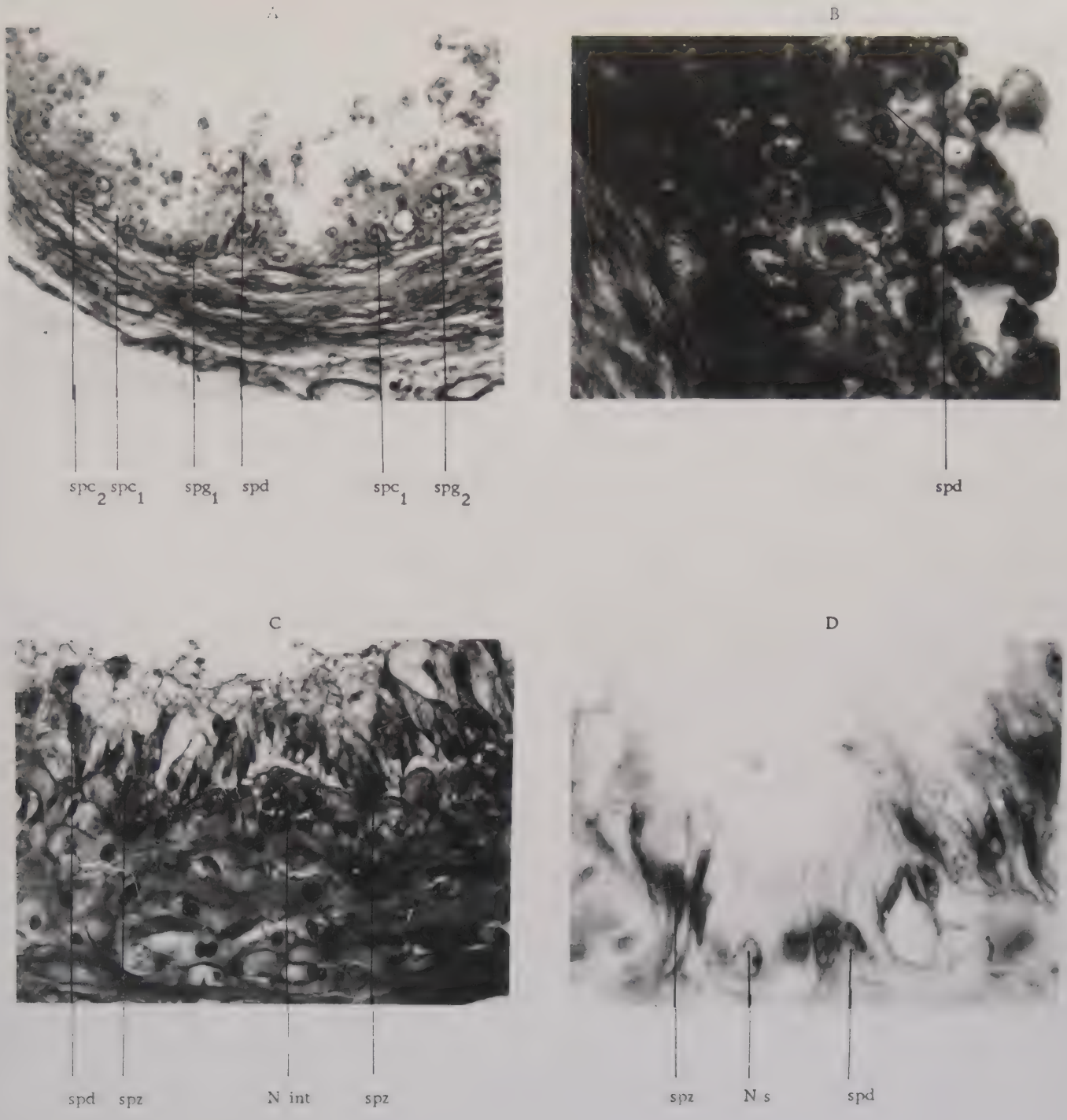
La division des spg_2 conduit à la formation des spc_1 qui très vite entreront dans la première division de maturation. De ce fait, ils se présentent sous deux formes essentiellement différentes : au repos ou en division.

1 - Spc_1 au repos : ainsi que le signalent tous les auteurs, les spc_1 au repos ressemblent beaucoup aux spg_1 après multiplication. Le noyau est plus ou moins allongé, ellipsoïde, son plus grand diamètre oscillant autour de 7 µ. Il est remarquablement hyalin et possède des grains de chromatine relativement gros, dont quelques uns peu nombreux sont plaqués contre la membrane nucléaire. En général, il existe 1 (quelquefois 2) gros nucléole foncé et excentrique. Le cytoplasme granuleux et les limites cellulaires sont bien visibles.

2 - Spc_1 en division : ce sont les stades les plus facilement reconnaissables. Ce qui frappe en premier lieu, c'est l'important accroissement du noyau; d'ellipsoïdal et relativement petit (7 µ) il devient sphérique, vésiculeux, très gros (12 µ en moyenne). Le nucléole a disparu et les différents stades de la méiose sont parfaitement visibles ; les chromosomes sous leurs divers aspects classiques baignent dans un fluide clair. Le stade synapsis est le plus représenté ; on trouve aussi de nombreuses plaques équatoriales de la métaphase.

d) Les spermatocytes secondaires : spc_2 (Fig. 11 - 12, p. 34 et 36). -

Ils sont facilement reconnaissables, plus petits que les stades antérieurs (diamètre nucléaire compris entre 4, 4 et 6, 3 µ), montrant des limites cellulaires très nettes, un noyau sphérique et un cytoplasme réduit fortement colorés par l'hématoxyline. Le noyau présente quelques caillots de chromatine assez gros. En outre, des sphérules fortement colorables (3 à 6) se trouvent appliquées contre la membrane nucléaire. Le nucléole central est petit et très fortement colorable.



-. Fig. 12 .-

A : Testicule montrant une spermatogenèse **active (avril)** (x510) B : Spermatides (x 1275)
C : Spermiogenèse (mai) (x 510) D : Stades de spermiogenèse et spermatozoïdes (x 1275)

N int : novaux interstitiels ; N s : noyau sertolien ; spd : spermatides ; spg_1 : spermatogonies 1 ; spg_2 : spermatogonies 2
spc_1 : spermatocytes 1 ; spc_2 : spermatocytes 2 ; spz

e) Spermatides : spd (Fig. 12, p. 36). -

Ce sont en toute saison, les éléments les plus nombreux du testicule ; le noyau, assez fortement colorable, sphérique, d'un diamètre compris entre 3,7 et 4,7 µ possède un gros nucléole central, et une chromatine en grains relativement gros. Il n'y a pas de sphérules chromatiniennes colorables contre la membrane nucléaire.

f) Spermatozoïdes : spz (Fig. 12, p. 36)

Ils ont une forme classique et sont très petits. La tête assez longue est conique, la pièce intermédiaire est courte, peu visible. A l'arrière, il existe un long flagelle. Bien entendu, entre les spermatides et le spermatozoïde achevé, il existe tous les stades intermédiaires de la spermiogenèse.

4°) Le cycle annuel. - (Fig. 13, p. 38). -

L'étude du cycle annuel a porté sur 127 individus, car elle s'est montrée assez délicate étant donnés, d'une part, les décalages importants qui existent d'un individu à l'autre dans la population sauvage et d'autre part les caractères propres aux Hippocampes qui les éloignent un peu de ce qui a été obtenu sur les autres Téléostéens. Deux diagrammes et un tableau résument ces résultats.

Le premier diagramme (fig. 13 A) indique au cours de l'année la présence des différents stades de la spermatogenèse ; l'épaisseur des zones ombrées est grossièrement proportionnelle à l'importance du développement propre du stade considéré, indiquant qu'il est peu, moyennement ou très développé. Les traits ininterrompus, qui joignent les zones ombrées indiquent que le stade envisagé existe, mais de façon extrêmement discrète. Enfin, le signe x indique l'abondance maximum des mitoses visibles.

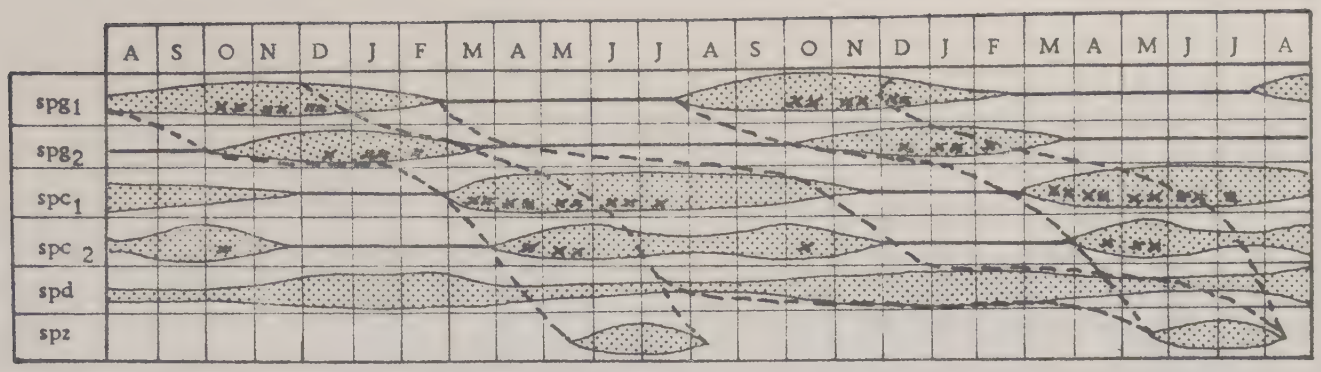
Le tableau 3 retrace les variations au cours de l'année du diamètre nucléaire moyen des différents stades. Les mesures ont été faites sur 2 individus au moins par mois et ont porté sur 50 noyaux au moins, 100 au plus.

-. Légende de la figure 13 .-

A : Présence et importance des différents stades de la spermatogenèse au cours de l'année.
x : abondance de mitoses.

B : Importance relative de chaque stade de la spermatogenèse au cours de l'année.

A


A S O N D J F M A M J J A S O N D J F M A M J J A
spg1
spg2
spc1
spc 2
spd
spz

B

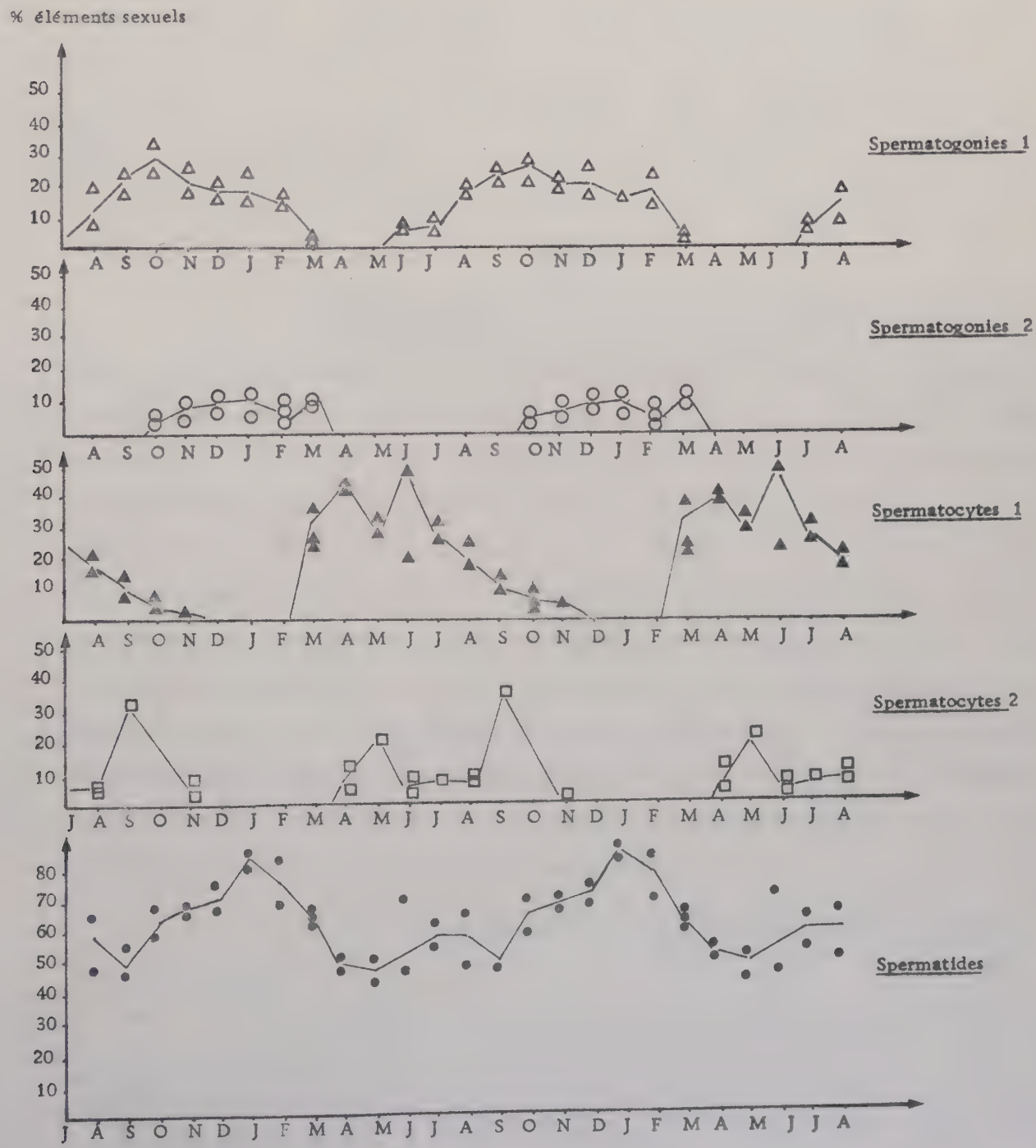

% éléments sexuels
Spermatogonies 1
Spermatogonies 2
Spermatocytes 1
Spermatocytes 2
Spermatides
A S O N D J F M A M J J A S O N D J F M A M J J A

Fig. 13

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Spg_1	8,5 8,7	10,4 12,1	12,4 12,7			8,1 8,1	8,1 8,4	8,7 8,6	8,5 8,4	8,1 7,4	7,1 7,5	8,7 8,2
Spg_2	7,3 7,1	8,7 8,8	7,1 8,2	8,6		8,6 7,2				7,1 6,0	6,4 6,0	6,3 7,1
Spc_1			9,0 8,4	9,2 9,3	9,6	12,9 11,4	10,0 10,6	11,9 11,8	12,9 12,7	10,6 10,5	10,1 9,2	
Spc_2			5,9 6,1	6,3 6,0	5,0 5,4	5,7 6,2	4,4 5,2	5,1 5,0	5,0 5,3	5,6 5,5	5,1 5,6	4,5 5,1
Spd	4,1 4,3	4,5 4,6	3,7 3,8	4,4 4,2	4,4 4,5	4,7 4,3	4,1 4,4	3,3 4,0	4,2 4,6	4,0 3,8	3,7 3,9	4,0 4,1

-. TABLEAU 2 .-

Le second diagramme (fig. 13 B) est destiné à montrer l'importance relative de chaque stade au cours de l'année. Toutes les cellules sexuelles contenues dans le champ du microscope (obj. 40, oc. 12,5) sont comptées par catégories et les pourcentages de chaque catégorie calculés par rapport au nombre total de cellules dénombrées. Les indications fournies par ce tableau sont imprécises car de nombreuses causes d'erreur entrent en jeu : structure différente du testicule suivant l'axe antéro - postérieur, plus ou moins grande abondance des produits génitaux suivant des caractères individuels insaisissables, et surtout disposition ni dispersée au hasard, ni en nids, mais intermédiaires desdifférents éléments sexuels. Dans la mesure du possible, j'ai continuellement essayé de comparer des zones équivalentes, mais il faut considérer les résultats obtenus comme l'indication d'un ordre de grandeur, et non comme des mesures exactes.

L'analyse des éléments de ces tableaux conduit à envisager ainsi le cycle mâle.

Au mois de juin (1), dès le début de l'incubation (ou peut-être

---

(1) Je prends pour la clarté de l'exposé, l'exemple précis d'un Hippocampe s'accouplant en juin. Il est bien évident que la même description décalée dans le temps, est valable pour les individus incubant plus tôt ou plus tard.

même dès la fin de l'accouplement, qui joue très vraisemblablement un rôle dans le déclanchement de l'activité génitale), les spermatogonies qui étaient peu nombreuses, dispersées çà et là, appliquées contre la paroi du testicule et enfouies sous les autres stades (spc_1, spc_2, spd), se mettent à se multiplier activement et apparaissent brusquement en nombre assez important (8 %) et de taille relativement petite (diamètre nucléaire moyen (8,1 µ). Le phénomène se poursuit en juillet-août et septembre (respectivement 10,20 et 24 %) ; en même temps, s'amorce une croissance qui fait passer le diamètre nucléaire moyen de 8,1 µ à 8,7 µ.

En octobre, en même temps que le diamètre nucléaire moyen retombe à 8,1 µ et même 7,4 µ, le nombre des spg_1 continue d'augmenter et passe à 29 % des éléments sexuels présents. On peut donc interpréter la chute du diamètre nucléaire moyen comme l'indice d'une mitose de multiplication ayant lieu entre septembre et octobre ; le même phénomène se reproduit entre octobre et novembre. On vérifie d'ailleurs l'existence de ces mitoses sur les coupes. La dernière poussée de spermatogonies ainsi apparues en novembre va commencer une croissance qui durera jusqu'en février, lentement donc, et amenant le noyau à un diamètre moyen de 12,1 µ.

A partir d'octobre, l'importance relative des spg_1 diminuera dans le testicule où déjà s'amorce leur transformation en spg_2, d'abord petites (diamètre nucléaire moyen : 6,0 µ), elles grandissent lentement de novembre à février, en même temps qu'augmente leur nombre et que décroît le nombre relatif des spg_1. A partir de février, ces spg_2 se transforment activement en spc_1 comme l'attestent à la fois les nombreuses mitoses visibles, la diminution des spg_2 et l'apparition des spc_1. Cette transformation, à son apogée en mars, se ralentira rapidement et sera pratiquement terminée fin mai.

Dès le mois de mars, les spc_1 sont nombreux, soit au repos, soit en prophase de la première division de maturation. Cette division est un phénomène constant pendant plusieurs mois, mais discontinu, sous forme de poussées successives. Le maximum d'activité mitotique se place en mai-juin (entre 30 et 50 % des éléments génitaux.)

Les spc_2 apparaissent en nombre important en avril (4 %) puis très nombreux en mai (21 %) ; leur nombre fluctue beaucoup par la suite, sans doute également en relation avec des poussées discontinues successives. On en trouve jusqu'en novembre.

Les spermatides sont de loin les éléments les plus nombreux du testicule, et constituent d'un bout à l'autre de l'année entre 50 et 80 % des éléments sexuels. En effet, les spc_2 apparus en avril présentent un grand développement en mai, juin et juillet ; de nombreuses mitoses y apparaissent et élaborent un stock important de spermatides, mais à partir de juin-juillet les animaux incubent, si bien que ces spermatides vont passer l'automne et l'hiver dans cet état et entameront leur maturation au printemps prochain. Cependant une partie des spermatides formées dans l'année, les plus précoces, provenant des premières spermatogonies secondaires qui ont donné les premiers spermatocytes, sont capables de terminer leur évolution spermiogénétique dès le mois de juin et donc de fournir des spermatozoïdes utilisables lors de l'accouplement.

Les spermatozoïdes n'existent dans le testicule que pendant un temps très court et encore sont-ils peu nombreux, relativement à la généralité des Téléostéens. Cela doit être lié, sans aucun doute, au mode de reproduction particulier des Hippocampes. Les premiers apparaissent en mai, leur développement maximum se situant en juin et juillet. Après l'accouplement on en trouve encore un certain nombre dans la partie terminale du tractus génital où ils persistent pendant un à deux mois. Puis ils disparaissent.

Ces spermatozoïdes ont donc une double origine : une partie provient de spermatides formées l'année précédente, à laquelle vient s'ajouter une partie issue des spermatides les plus précoces de l'année. C'est entre autres détails cette double poussée spermatogénétique, une lente et une rapide, qui donne leur allure si particulière aux testicules des Hippocampes.

En résumé, ce qui caractérise le cycle annuel de l'Hippocampe, c'est :

1°) L'absence d'une phase de repos complet ; croissance et multiplication cellulaires sont présentes tout au long de l'année.

2°) Il y a deux poussées de spermatogenèse ; une rapide (9 mois environ de la spg_1 au spz) et une lente (16 mois pour la même évolution) en partie imbriquée.

3°) La spermatide est l'élément sexuel le plus abondant et constant dans ce testicule.

4°) Les spermatozoïdes sont relativement peu nombreux et présents pendant un temps très court.

5 °) Le déclenchement d'une nouvelle poussée spermatogoniale se fait au moment de l'accouplement ou au début de l'incubation.

5°) Le tissu interstitiel. -

Le problème du tissu interstitiel des poissons a donné lieu à une abondante littérature depuis sa description par COURRIER (1921) chez diverses espèces de Téléostéens. Retrouvé et décrit chez un certain nombre d'autres espèces (Van OORDT, 1924 ; CRAIG-BENNETT, 1931 ; HOAR, 1954 entre autres) il donne lieu à une polémique ayant comme point de départ les conclusions de CHAMPY (1924) niant l'existence d'un tissu interstitiel chez Gasterosteus et Xiphophorus et liant le déterminisme des caractères sexuels secondaires à la lignée germinale, opinion à laquelle se rangent un certain nombre d'auteurs à propos de leur propre matériel (RASQUIN et HAFFTER, 1951 ; MATHEWS, 1938 ; REGNIER, 1938 ; BULLOUGH, 1939 , WEISEL, 1943). Bien que dès 1952, VIVIEN ait définitivement montré sur Xiphophorus en éliminant la lignée germinale par irradiation que l'apparition des caractères sexuels secondaires est liée à l'activité du seul tissu interstitiel, il planait un doute sur l'existence de ce tissu chez les espèces où les auteurs n'avaient pu le mettre en évidence. LOFTS et MARSHALL (1956-1957) ont

éclairci le problème en montrant que chez les Téléostéens il existe deux dispositions distinctes du tissu endocrine testiculaire. Dans l'une, typique, les cellules interstitielles ont un arrangement semblable aux cellules de LEYDIG des Vertébrés supérieurs, occupant les interstices existant entre les lobules testiculaires (Gasterosteus, Tilapia, Clupea, par exemple) ; dans l'autre, ces cellules ne sont plus entre les lobules testiculaires, mais incluses dans la paroi lobulaire ; ce sont les "lobules boundary cells" mises en évidence chez Esox, Salvelinus, Labeo, par exemple.

a) Situation - structure (Fig. 14, p. 44). -

Chez l'Hippocampe, où le testicule se réduit à un tube séminifère unique, le problème se posait au départ sans ambiguité. Ne pouvant concevoir en l'état actuel de nos connaissances un tissu endocrine mêlé au tissu reproducteur, les cellules interstitielles devaient être obligatoirement recherchées dans la paroi testiculaire.

J'ai d'abord essayé à la suite d'ARON (1924) et BENOIT (1936) de mettre en évidence ce tissu par des techniques mitochondriales. Ces essais se sont en définitive soldés par un demi-échec car la partie cytoplasmique est soit comprimée et réduite par les fibres musculaires dans le cas de cellules isolées, soit très encombrée dans le cas de nids cellulaires riches en noyaux si bien que les images obtenues restaient relativement équivoques.

En revanche, la mise en évidence de lipides sur coupes à la congélation par le Noir Soudan donne d'excellentes images, très visibles, en tous points comparables à celles obtenues par MARSHALL et LOFTS (l. c.) (fig. 15, p. 48).

Le tissu interstitiel avait été bien vu par RAUTHER (1925), mais mal interprété et pris pour des groupes de cellules germinales abortives. Ce sont des éléments assez pauvres en cytoplasme avec un noyau franchement ellipsoïdal, contenant une chromatine finement granuleuse, et se colorant toujours fortement par les colorants nucléaires. Ces noyaux, qui ne

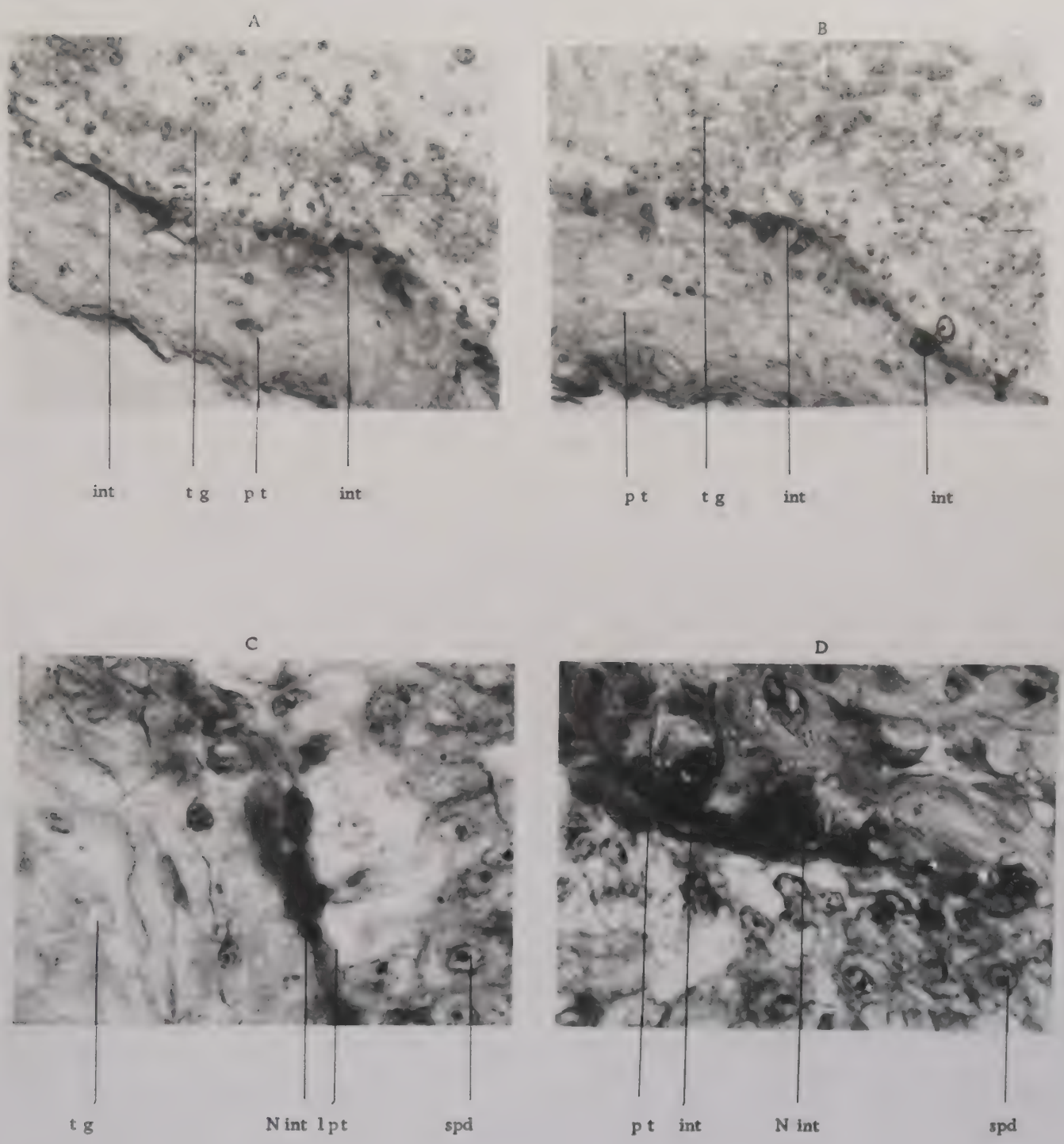


Fig. 14 : TISSU INTERSTITIEL TESTICULAIRE

A - B : Disposition générale (x 510)

C - D : Détail (x 1275)

int : tissu interstitiel ; l p t : limitante de la paroi testiculaire ; N int : noyaux interstitiels ; p t : paroi testiculaire ; spd : spermatides ; t g : tissu germinal.

sont pas toujours faciles à distinguer des noyaux banaux conjonctifs ou musculaires, existent soit dispersés, soit groupés en nids serrés de 6 à 20 éléments, le plus souvent immédiatement sous la vitrée qui sépare la lumière testiculaire de sa paroi, mais aussi dans les interstices des fibres musculaires pariétales. Ils sont relativement plus abondants au niveau du mésorchium que dans la région opposée, et dans la région inférieure que dans la région supérieure du testicule.

b) Evolution au cours du cycle sexuel. -

L'étude de cette évolution portera sur deux points distincts : d'une part, sur les variations du volume nucléaire moyen et de la densité nucléaire moyenne, d'autre part sur la variation de l'abondance des lipides soudanophiles.

1 - Volume nucléaire moyen (fig. 16, p. 46). - L'étude a porté sur 65 Hippocampus guttulatus mâles répartis tout au long de l'année à raison de deux au moins par mois et par stades principaux de l'incubation. En raison de la forme ellipsoïdale plus ou moins allongée des noyaux interstitiels, on ne pouvait se contenter de l'étude des variations du plus grand diamètre nucléaire. J'ai donc mesuré le grand et le petit diamètre de 50 noyaux au moins, 100 au plus et calculé pour chaque animal les deux dimensions moyennes. J'ai appelé volume nucléaire moyen, le volume de l'ellipsoïde de révolution ayant pour grand axe et pour petit axe respectivement les valeurs ainsi calculées. Les résultats obtenus sont traduits par la courbe A (fig. 16, p. 46).

2 - Densité nucléaire moyenne. - C'est le nombre moyen de noyaux contenus dans une unité de surface arbitrairement choisie (ici, le champ du microscope, obj. 60, oc. 12,5) établie sur 10 mesures au moins, 20 au plus sur chaque animal. 25 Hippocampes ont été utilisés.

Les résultats sont traduits par le courbe B (fig. 16, p. 46).

L'étude comparée des variations du volume nucléaire moyen et la densité nucléaire moyenne au cours de l'année montre que :

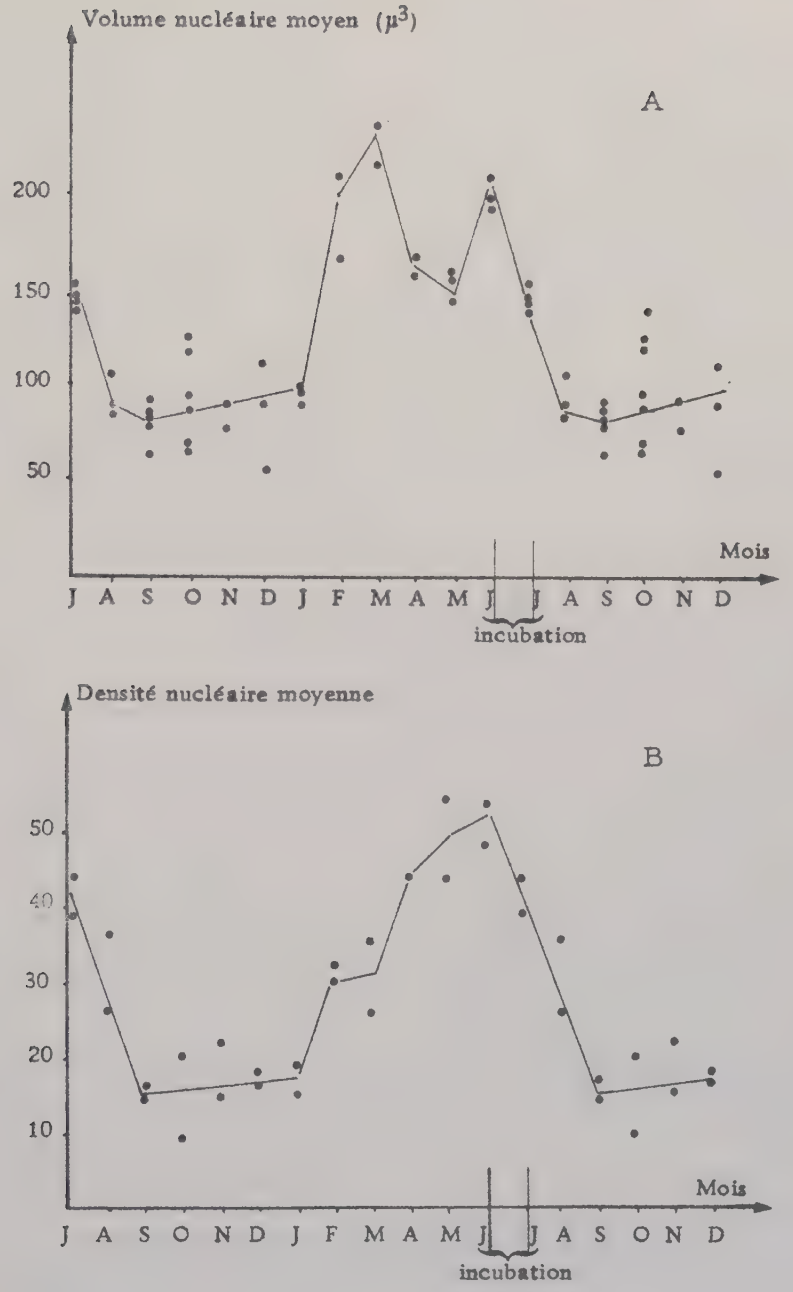


Fig. 16 : Evolution du volume nucléaire moyen (A) et de la densité nucléaire moyenne (B) du tissu interstitiel au cours de l'année.

- Le volume nucléaire et la densité sont maximum en juin au moment de l'accouplement (1), puis diminuent considérablement dès la libération des jeunes jusqu'en septembre pour se stabiliser à des valeurs très faibles. A partir de février, leur nombre augmente d'abord lentement jusqu'en mars, alors que le volume croît considérablement. En avril et mai l'accroissement important de leur nombre et la diminution momentanée de leur taille doivent être considérés comme le signe d'une forte activité mitotique, à laquelle fait suite en juin, une période d'intense activité caractérisée par la densité et le volume les plus forts, enregistrés au cours de l'année.

On peut donc dire que le tissu interstitiel montre une forte activité printanière culminant à l'époque de l'accouplement, suivie d'une période d'involution rapide estivale, enfin d'une période de repos hivernal.

3 - Lipides soudanophiles (fig. 15, p. 48). - Au niveau des lipides soudanophiles, on peut mettre en évidence chez l'Hippocampe des phénomènes comparables à ceux décrits par MARSHALL et LOFTS (1957) chez Esox. Encore que la technique de coloration des lipides au Noir Soudan se prête mal à une appréciation quantitative précise des phénomènes étudiés, il semble bien qu'on puisse reconnaître les étapes suivantes au cours du cycle sexuel :

- Décembre, janvier et février : les plages soudanophiles sont réduites, dispersées, mais fortement colorables (fig. 15 A, p. 48).

- De mai à juin : l'importance des territoires colorés va augmenter considérablement en même temps que diminue beaucoup l'intensité de la coloration (fig. 15 B, p. 48).

- Pendant l'incubation (fig. 15 C et D, p. 48) les plages interstitielles sont grandes et fortement colorées. Cette intensité de la coloration

---

(1) Tout au long de ce travail, par souci de clarté, j'ai choisi de prendre l'exemple d'Hippocampes s'accouplant dans la première semaine de juin, donc libérant leurs jeunes dans la dernière semaine du même mois, et entrant dans la phase post-partum au mois de juillet.

Fig. 15 : TISSU INTERSTITIEL TESTICULAIRE - Coloration des lipides au Noir Soudan

A - B : Février
A : (x 510)
B : (x 330)

C - D : Juin
C : (x 330)
D : (x 510)

Int : tissu interstitiel ; p t : paroi testiculaire ; t g : tissu germinal ; spd : spermatides. (Dans les figures B et C, le tissu germinal est détaché de la paroi testiculaire).

persistera pendant tout l'automne en même temps que se réduira l'importance des territoires interstitiels.

Je n'ai pu observer la décharge de ces lipides dans la lumière testiculaire, comme MARSHALL et LOFTS l'ont fait chez Esox. En effet, les spermatides toujours présentes dans le testicule de l'Hippocampe renferment de nombreux granules fortement soudanophiles qui empêchent de distinguer un éventuel apport de matériel lipidique issu de la paroi testiculaire.

L'affaiblissement de l'importance des lipides mise en évidence au moment de la maturité génitale, parallèle à l'augmentation du volume du tissu interstitiel et de son activité, puis leur réapparition en forte quantité au cours de l'incubation, semblent bien confirmer les observations de FOLLENIUS et PORTE (1960) sur les cellules interstitielles de Lebistes. Pour ces auteurs, les inclusions lipidiques de ces cellules signalent leur sénescence et leur inactivation, ce qui correspond effectivement avec nos observations (fig. 17, p. 50).

En conclusion, il existe dans le testicule des Hippocampes un tissu interstitiel constitué d'éléments cellulaires nombreux situés dans la paroi de la glande, le plus souvent dans la couche conjonctive interne. Ces éléments présentent au cours de l'année une activité cyclique que l'on peut saisir soit par des méthodes caryométriques, soit par l'étude des inclusions lipidiques de ces cellules. Le maximum de cette activité se situe au moment de la maturation des éléments sexuels juste avant l'accouplement.

III. - DIFFERENCIATION GENITALE ET APPARITION DU MARSUPIUM. -

1°) Différenciation génitale. -

Au moment de la naissance, les jeunes Hippocampes sont sexuellement indifférenciés. Les glandes génitales se présentent comme deux

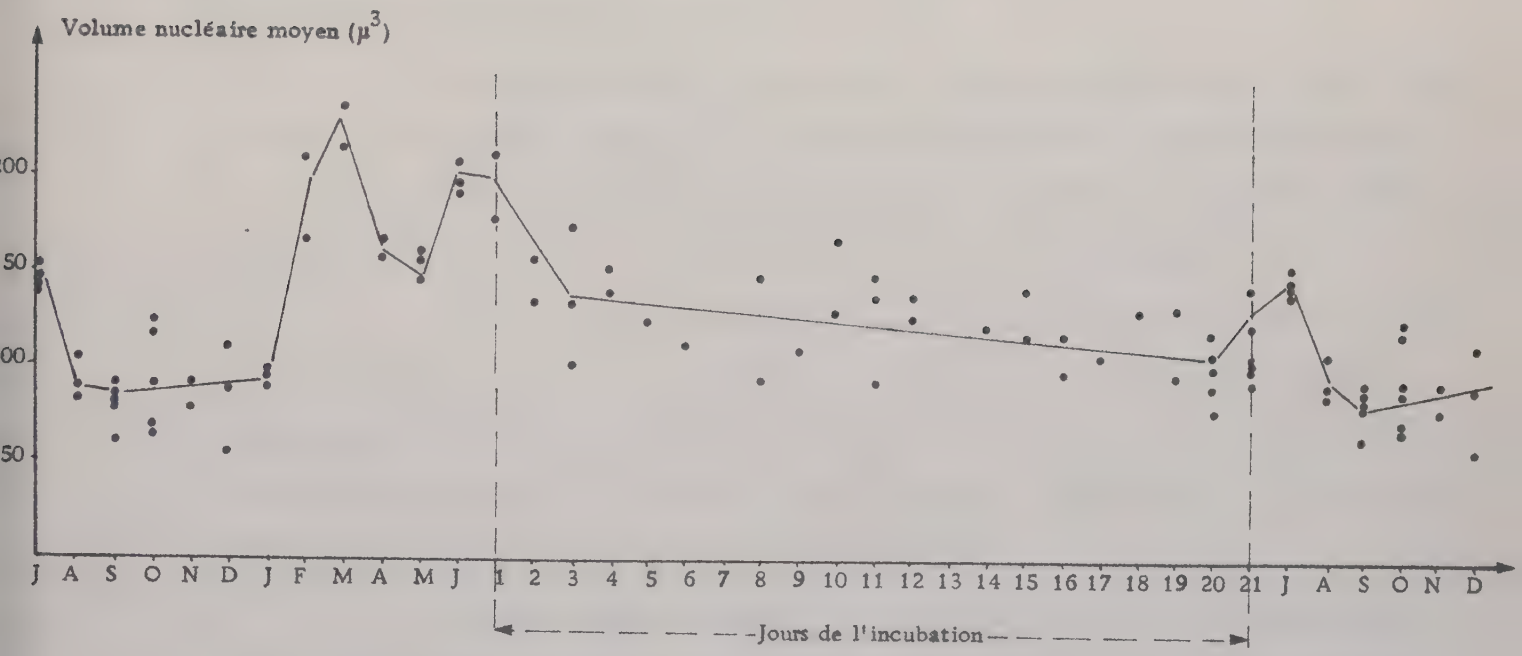


Fig. 17 : Involution du volume nucléaire moyen du tissu interstitiel au cours de l'incubation

masses cylindriques longitudinales appliquées contre la paroi dorsale et contenant des gonies mêlées à quelques rares éléments somatiques, le tout recouvert par l'épithélium des crêtes génitales. Ni le nombre moyen des gonies, ni leurs dimensions moyennes ne permettent de distinguer celles à destinée mâle de celles à destinée femelle.

Cet état persiste pendant un mois environ de la phase planctonique, jusqu'à ce que les animaux aient atteint une longueur de tronc de 7 à 8mm.

A ce moment, comme l'a bien vu RAUTHER, on assite à une différenciation génitale rapide qui très vite aboutit à la formation d'ovaires ou de testicules bien reconnaissables.

Il apparaît dans l'ovaire des oogonies de forte taille, peu nombreuses, séparées par les futures cellules folliculaires, assez nombreuses, dont l'arrangement n'est pas encore typique. Les parois de la glande restent très minces et la cavité ovarienne est visible du côté du mésoarium.

Au contraire, les jeunes testicules renferment de nombreuses spermatogonies, relativements petites, entremêlées de quelques éléments somatiques (cellules de Sertoli ?) le tout entouré d'une paroi conjonctive épaisse richement nucléée et comportant déjà quelques capillaires. La lumière testiculaire est bien visible au centre de la glande.

Notons (ainsi que nous l'avons dit page 24) que l'apparition de cette différenciation génitale se signale sur la courbe de croissance par une légère inflexion visible aux alentours de 7,5 mm de longueur du tronc.

A partir de ce moment là, les choses vont aller très vite et dès le début de la vie benthique (L = 18-20 mm) les mâles possèderont des testicules parfaitement reconnaissables à architecture de type adulte, et où on peut reconnaître les premiers éléments endocrines.

2°) Apparition du marsupium. -

L'apparition du marsupium chez les jeunes mâles est précoce et se situe au début de la vie benthique (L = 18-20 mm). Il apparaît d'abord sur

la région qu'occupera le futur marsupium une zone ovale, en général plus pigmentée, entourée d'un liséré foncé légèrement saillant. Ce liséré devient bientôt bourrelet et se développe rapidement en s'incurvant vers le plan sagittal. Les replis ainsi formés se rejoignent et se soudent sur la ligne médio-ventrale d'abord en arrière, puis vers l'avant, délimitant ainsi une poche entièrement tapissée de l'épithélium épidermique. Comme l'a fait remarquer RAUTHER cette prolifération des bourgeons latéraux est due au tissu conjonctif, ainsi que l'atteste l'accumulation de noyaux conjonctifs à leur niveau, et non à l'épithélium qui suit passivement la prolifération conjonctive. En même temps on constate une fluidification et un épaississement très net du tissu conjonctif caudal, immédiatement sous l'épithélium marsupial.

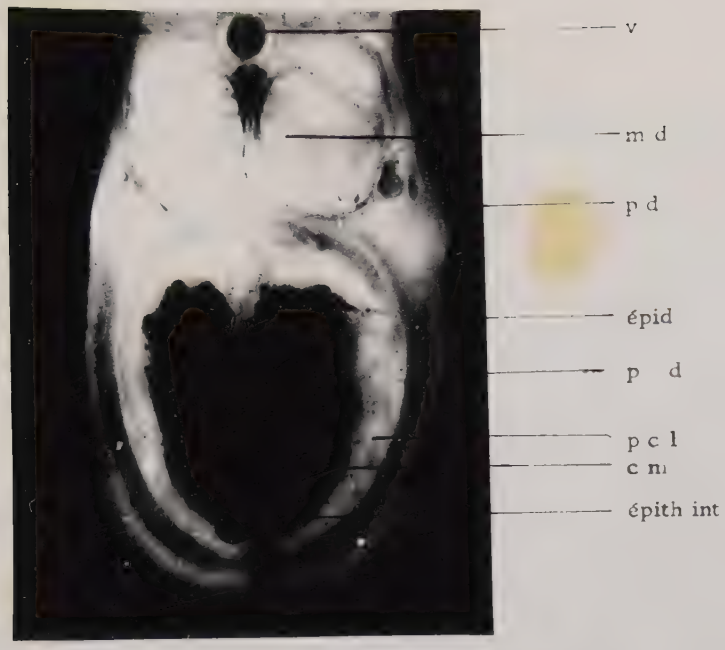
A ce moment, l'épithélium est encore identique à l'épiderme externe comportant de nombreuses glandes à mucus et des "Flammen Zellen" des auteurs allemands. Ces formations disparaîtront par la suite sans que nous ne puissions, pas plus que RAUTHER, préciser les modalités et l'époque de leur disparition.

En résumé, l'apparition du marsupium chez les Hippocampes mâles est précoce ; elle suit d'un mois à peu près la différenciation génitale et apparaît, au début de la vie benthique, à un moment où l'on peut déjà distinguer dans la paroi testiculaire les premiers éléments interstitiels. Elle est due à une prolifération conjonctive, et la cavité ainsi délimitée, extérieure au corps proprement dit de l'animal est tapissée d'un épiderme cutané qui se modifiera en définitive très peu.

IV.- STRUCTURE ET EVOLUTION DU MARSUPIUM EN DEHORS DE L'INCUBATION.-

Alors que le marsupium des Syngnathes a fait l'objet de nombreux travaux descriptifs, celui de l'Hippocampe n'a été décrit que rarement.

A



B

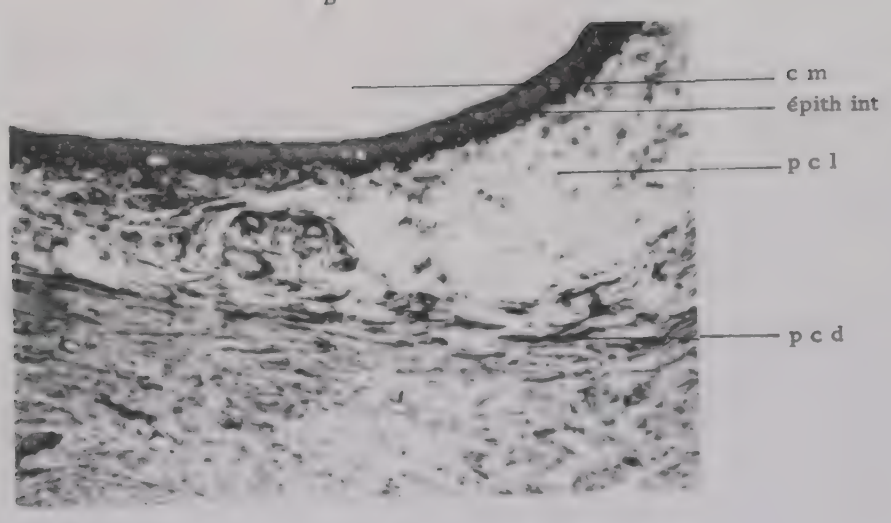


Fig. 18 : STRUCTURE DU MARSUPIUM

A : Structure générale (5,5)
B : Détail de la structure interne (x 330)

c m : cavité marsupiale ; épid : épiderme ; épith int : épithélium marsupial interne ; m d : muscles dorsaux ; p c d : paroi conjonctive dense ; p c l : paroi conjonctive lâche ; p d : plaque dermique ; v : vertèbre.

DUNCKER (1912) en parle brièvement, RAUTHER (1925), ROULE et VERRIER (1930) en donnent une bonne description à laquelle LINTON et SOLOFF (1964) n'ajoutent que quelques documents histochimiques nouveaux.

1°) Structure. -

Le marsupium de l'Hippocampe se présente essentiellement sous la forme d'une poche allongée en forme de cône aplati suivant une de ses faces. Il s'étend de l'anus à la 7e vertèbre caudale. Dans sa partie antérieure, il se termine par deux culs de sacs pairs de part et d'autre du suspensorium de la nageoire anale ; ces culs de sac sont peu développés chez H. guttulatus et ne remontent guère au delà de l'anus ; en revanche chez H. hippocampus, ils font largement saillie dans la partie postérieure de la cavité générale.

Ce marsupium s'ouvre à son extrémité antérieure par une fente allongée bordée de chaque côté par un repli de la paroi qui constitue une véritable valvule, dont l'occlusion est d'autant plus forte que la pression interne est plus importante. En outre, il existe autour de cette valvule un sphincter musculaire lisse déjà vu par RAUTHER et DUNCKER (l. c.). Ces muscles s'épanouissent en éventail oblique et s'insèrent d'une part autour de l'ouverture marsupiale, d'autre part latéralement sur des renforcements fibreux du conjonctif dense de la paroi.

Ce marsupium est composé de l'extérieur vers l'intérieur (fig. 18, A et B, p.53) :

1°) D'un épithélium épidermique pauci-stratifié comportant un grand nombre de cellules à long prolongement apical conique, des cellules à mucus, des cellules épithéliales ordinaires.

2°) D'une couche de tissu conjonctif dense formé de larges fibres collagènes, puissantes, plus ou moins anastomosées et enchevêtrées , et de quelques fibres élastiques. Entre l'épithélium et cette couche conjonctive se situe une assise de chromatophores.

3°) D'une couche de tissu conjonctif lâche ; dans ses mailles circulent

de nombreux capillaires et éléments mobiles. Ces capillaires proviennent d'artères qui naissent sans ordre défini directement de l'artère caudale, se ramifient considérablement, puis après s'être épanouies dans le tissu conjonctif lâche se jettent dans l'amas lymphoïde ventral, et de là,dans la veine caudale.

4°) D'un épithélium stratifié (2, quelquefois 3 couches de cellules), reposant directement sur le tissu conjonctif (LINTON et SOLOFF, 1964) qui tapisse la cavité interne. Nous avons vu (page 52) que ce n'est que l'épiderme à peine modifié. Il contient un certain nombre de cellules claires, sans doute des cellules à mucus. Entre lui et le tissu conjonctif lâche, il existe une couche pigmentaire d'importance variable suivant les individus.

2°) Evolution du marsupium au cours du cycle annuel (incubation exceptée) (fig. 19, p. 56). -

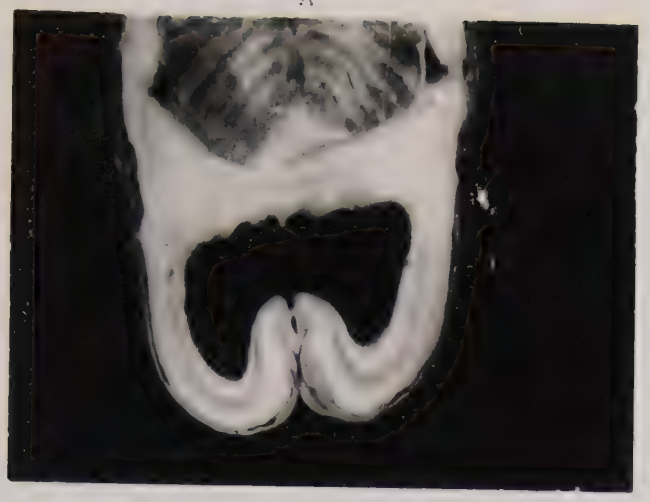
Au cours du cycle sexuel, le marsupium subit de profondes modifications portant sur l'importance et la structure de ses composants conjonctifs et épithéliaux. On peut les résumer ainsi :

a) Hiver : (novembre - février) (fig. 19 A et B). -

Il est formé d'une enveloppe épaisse de tissu conjonctif dense, peu irrigué, formé de fibres collagènes larges, assez nettement circulaires et plus ou moins anastomosées ; les éléments cellulaires sont assez nombreux. A l'intérieur la couche de tissu conjonctif lâche est faible, pratiquement annulaire ; elle est peu irriguée et contient peu d'éléments figurés, quelques fibres collagènes, de rares fibres élastiques, le tout noyé dans une substance fondamentale abondante et fortement colorable.

La lumière du marsupium est tapissée par l'épithélium interne, bi-stratifié, de faible épaisseur. En effet, ses cellules sont petites, à peine cubiques, et possèdent un noyau petit (diamètre moyen : 3,5 µ) dont le nucléole est invisible. La densité nucléaire est faible.

A

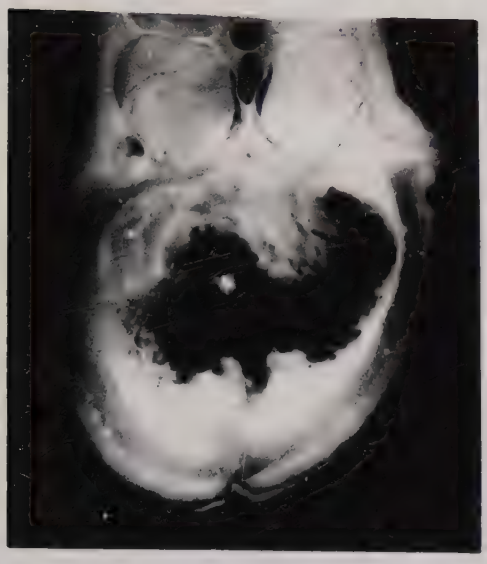


novembre

B

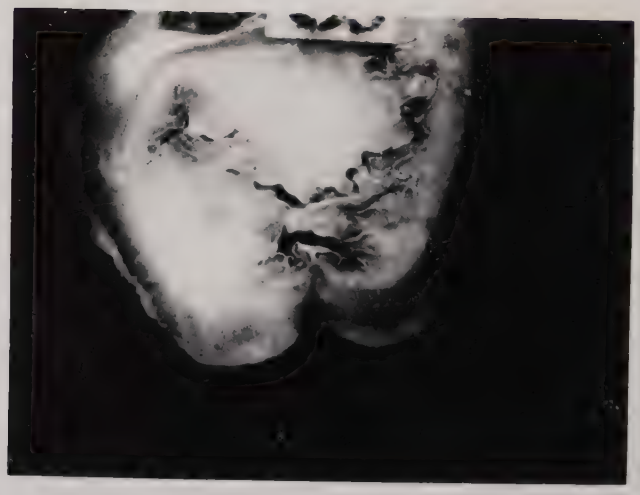
février

C



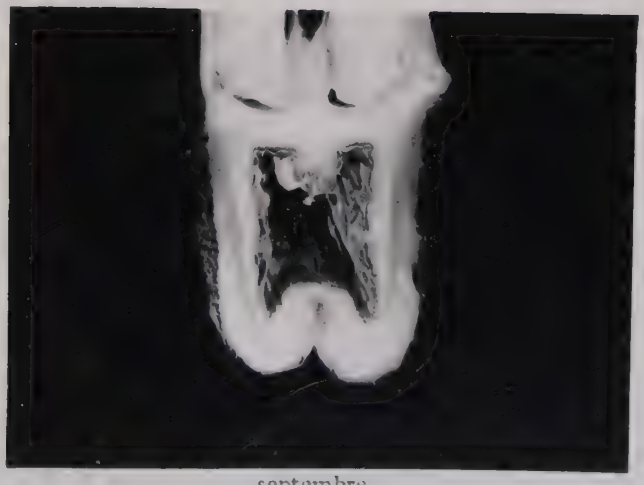
avril

D



juin

E



septembre

Fig. 19 : EVOLUTION DU MARSUPIUM AU COURS DE L'ANNEE (x5,5)
(explications dans le texte)

b) Début du printemps (mars - avril) (fig. 11 C, p. 34). -

La paroi externe s'est épaissie, les fibres collagènes sont par endroits très larges, comme fusionnées, les éléments figurés toujours aussi peu abondants, en revanche l'irrigation est meilleure.

Au niveau du tissu conjonctif lâche, les changements sont très visibles ; il est le siège d'une prolifération active se traduisant par une augmentation de son épaisseur et par la formation de plis encore faibles vers la lumière centrale. Il est moins "lâche" qu'à la période précédente, possède davantage de fibres dans une substance fondamentale proportionnellement moins abondante, et surtout il montre un nombre considérable de capillaires presque tous orientés parallèlement à la surface du marsupium.

L'épithélium interne a augmenté d'épaisseur, ses cellules sont plus grandes, plus nombreuses et possèdent un noyau plus gros (diamètre moyen 3,96 µ) avec un nucléole bien visible.

c) Fin du printemps (mai -juin) (fig. 19 D, p. 56). -

La paroi externe change d'aspect. Les faisceaux de fibres collagènes s'amincissent en se clivant en faisceaux plus petits entre lesquels apparaît de la substance fondamentale et une irrigation fortement augmentée. Les éléments figurés sont nombreux. Cette paroi est le siège d'une prolifération marquée se traduisant à la fois par l'augmentation de la taille du marsupium et de la cavité qu'il délimite et par la formation de plis longitudinaux qui permettent en partie l'énorme distension future.

A cette époque, le tissu conjonctif lâche augmente très fortement sa masse, faisant des plis considérables qui obstruent presque complètement la lumière marsupiale, notamment à partir de la paroi dorsale où se forme un énorme coussin conjonctif. Les fibres collagènes et élastiques sont subdivisées et diluées dans une substance fondamentale très fortement accrue et beaucoup moins colorable. Les capillaires, plus gros et plus nombreux, sont entraînés dans ce mouvement et se ramifient considérablement sous l'épithélium au contact de la couche pigmentaire.

L'épithélium, très acidophile, est épais, les cellules sont grandes, nombreuses, possédant un très gros noyau (diamètre moyen compris entre 4,5 et 5,2 µ) muni d'un grand nucléole pariétal très visible. A ce moment le marsupium se remplit d'un liquide opalescent sur le vivant, coagulable et acidophile sur les animaux fixés, et qui n'est autre que du sérum exsudé par les capillaires sous-jacents (voir page 310). Le marsupium est prêt à recevoir les œufs.

d) Incubation (juin). -

Les phénomènes complexes qui se déroulent dans le marsupium pendant l'incubation seront exposés séparément en détail au Chapitre III, page 123.

e) Eté - automne (juillet - octobre) (fig. 19 E, p. 56). -

Après le part, les structures marsupiales manifestent une hypoplasie et une involution progressives. Après la distension subie au cours de l'incubation, la paroi externe va reprendre son aspect massif, épais, formé d'épaisses fibres collagènes ; le conjonctif lâche interne va se réduire considérablement, disparaissant pratiquement de la partie caudale du marsupium et réduisant d'autant la cavité centrale. Il est envahi d'éléments mobiles : histiocytes, mastocytes, leucocytes ; la substance fondamentale diminue, ainsi que les éléments collagènes ; les capillaires se raréfient et quittent la zone juxta-épithéliale. Enfin, l'épithélium s'amincit beaucoup ; il ne compte plus que deux couches de petites cellules, cubiques, très peu colorables, possédant un noyau d'abord assez gros, puis de plus en plus petit (le diamètre moyen passe de 4,5 à 3,8 µ en moyenne) avec un nucléole peu ou pas visible. La densité nucléaire est extrêmement faible.

En conclusion, le marsupium de l'Hippocampe subit au cours de l'année des transformations le préparant à l'incubation des œufs qu'il reçoit de la femelle lors de l'accouplement, puis résorbant les structures incubatoires une fois leur rôle accompli. Ces modifications sont très perceptibles au niveau du tissu conjonctif lâche interne, mais difficiles à apprécier ; elles

sont peut-être moins remarquables au niveau de l'épithélium interne, mais en revanche se prêtent bien aux mesures. La figure 45, page 130 résume les variations du diamètre nucléaire moyen (50 à 100 noyaux mesurés par individus) des cellules épithéliales, variations significatives dans une large mesure de leur activité. Après le part, on note une involution rapide jusqu'à un minimum atteint vers septembre, maintenu jusqu'en novembre en moyenne. Dès le mois de décembre, jusqu'au mois d'avril, la taille de ces noyaux augmente rapidement et régulièrement jusqu'à de très fortes valeurs. Entre avril et mai, se situe une forte diminution du diamètre nucléaire moyen qui, jointe à la fois à l'extension des plis internes du conjonctif entraînant l'épithélium et à l'augmentation très visible du nombre des noyaux, est, sans aucun doute, le signe d'une forte activité mitotique. On trouve d'ailleurs à cette époque de nombreuses figures mitotiques dispersées dans l'épithélium. Puis, après cette multiplication, apparaît une phase de croissance nucléaire, culminant en juin, au moment de l'accouplement. Après le part, le cycle recommence.

V.- ETUDE EXPERIMENTALE DE L'EVOLUTION DU MARSUPIUM EN DEHORS DE L'INCUBATION.-

Deux faits doivent retenir l'attention :

1°) L'apparition du marsupium chez les jeunes mâles se fait peu de temps après la différenciation génitale et au moment où le testicule acquiert son architecture définitive permettant de reconnaître les premiers éléments interstitiels.

2°) Si l'on superpose les courbes d'évolution annuelle du volume nucléaire moyen des cellules interstitielles et du diamètre nucléaire moyen de l'épithélium marsupial, on est frappé par leur similitude. Il semble que l'activité épithéliale marsupiale (et la morphogenèse conjonctive qui lui est associée)

soit liée à l'activité interstitielle, compte tenu du léger décalage existant entre la secrétion endocrine et la réponse de l'effecteur.

Il semble donc que l'on puisse considérer le marsupium comme un caractère sexuel secondaire dont l'élaboration et les modifications cycliques sont sous déterminisme testiculaire. Pour vérifier le bien fondé de la 2e partie de cette hypothèse, j'ai réalisé successivement les expériences suivantes :

1°) Castration de mâles mûrs, présentant un marsupium au maximum de son développement.

2°) Injection de testostérone à des castrats mûrs, soit immédiatement après la castration, soit après un délai plus ou moins long.

3°) Hypophysectomie de mâles mûrs, suivie ou non d'injection de testostérone.

4°) Injection de testostérone à des mâles d'automne, en période d'involution génitale.

Les résultats sont les suivants :

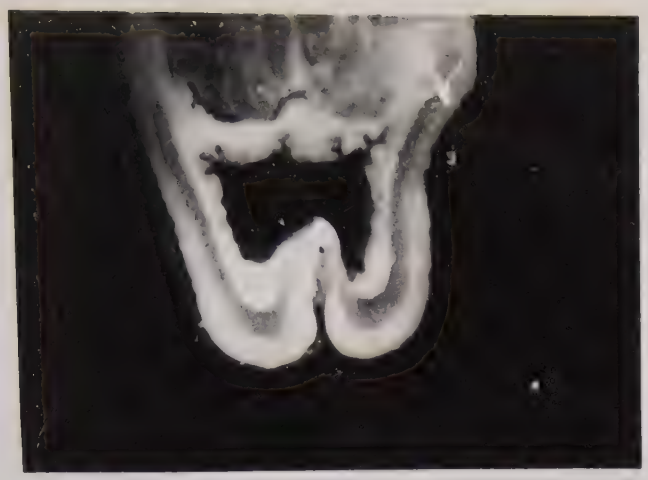
1°) Castration de mâles mûrs (fig. 20 A, p. 61 et 21 B, p. 63). -

13 Hippocampes mâles ont été castrés bilatéralement et totalement, puis sacrifiés après l'opération dans des délais allant de 5 à 47 jours.

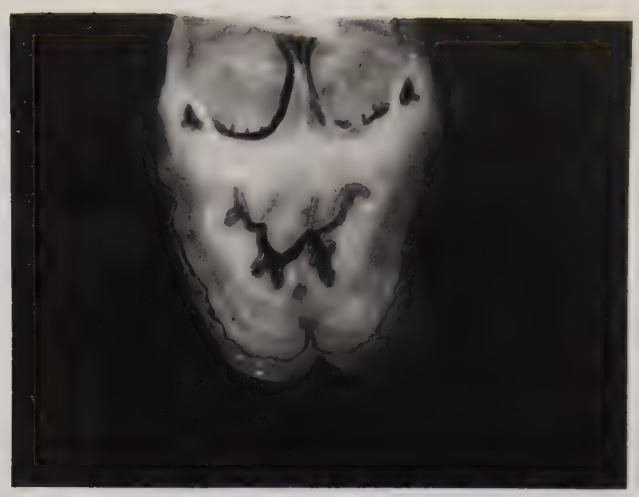
On constate une hypoplasie progressive du tissu conjonctif, sensible à partir du 10e jour ; elle est très forte à partir du 30e jour, et s'accentue encore par la suite, donnant des images inférieures au minimum observé chez les animaux normaux en involution génitale au cours de l'automne. En outre, les fibres collagènes restent très fines, peu nombreuses et isolées dans une substance fondamentale non colorable. En même temps, la vascularisation diminue rapidement et devient très pauvre à partir du 20e jour.

L'épithélium interne est le premier à réagir à la castration : dès le 10e jour après l'opération la taille des noyaux et l'épaisseur de

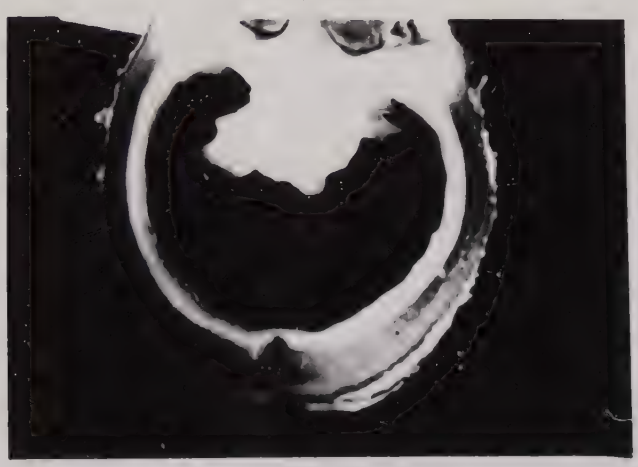
A



B



C



-. Fig. 20 .-

A : Marsupium de mâle mûr castré depuis 22 jours (x 5,5) : involution du tissu conjonctif lâche.

B : Marsupium de mâle mûr castré, puis traité par la testostérone (x 5,5) : le tissu conjonctif lâche est resté comparable à celui des témoins (voir fig. 19).

C : Marsupium de mâle mûr hypophysectomisé depuis 44 jours (x 5,5) : réduction considérable du tissu conjonctif lâche.

l'épithélium diminuent fortement. Ce phénomène s'accentue progressivement. Au 47e jour, l'épithélium est extrêmement mince, très vaguement bi-stratifié et possède des noyaux peu nombreux et très petits (diamètre moyen : 3,02 µ).

2°) Injection de testostérone à des castrats mûrs (fig. 20 B, p. 61 et 21 C et D, p. 63). -

a) Immédiatement après la castration. -

4 mâles castrés ont reçu durant les 21 jours suivant l'opération 5 injections de 125 γ de propionate de testostérone à raison d'une injection tous les 4 jours. Le tissu conjonctif et l'épithélium interne du marsupium sont restés comparables à ceux des témoins.

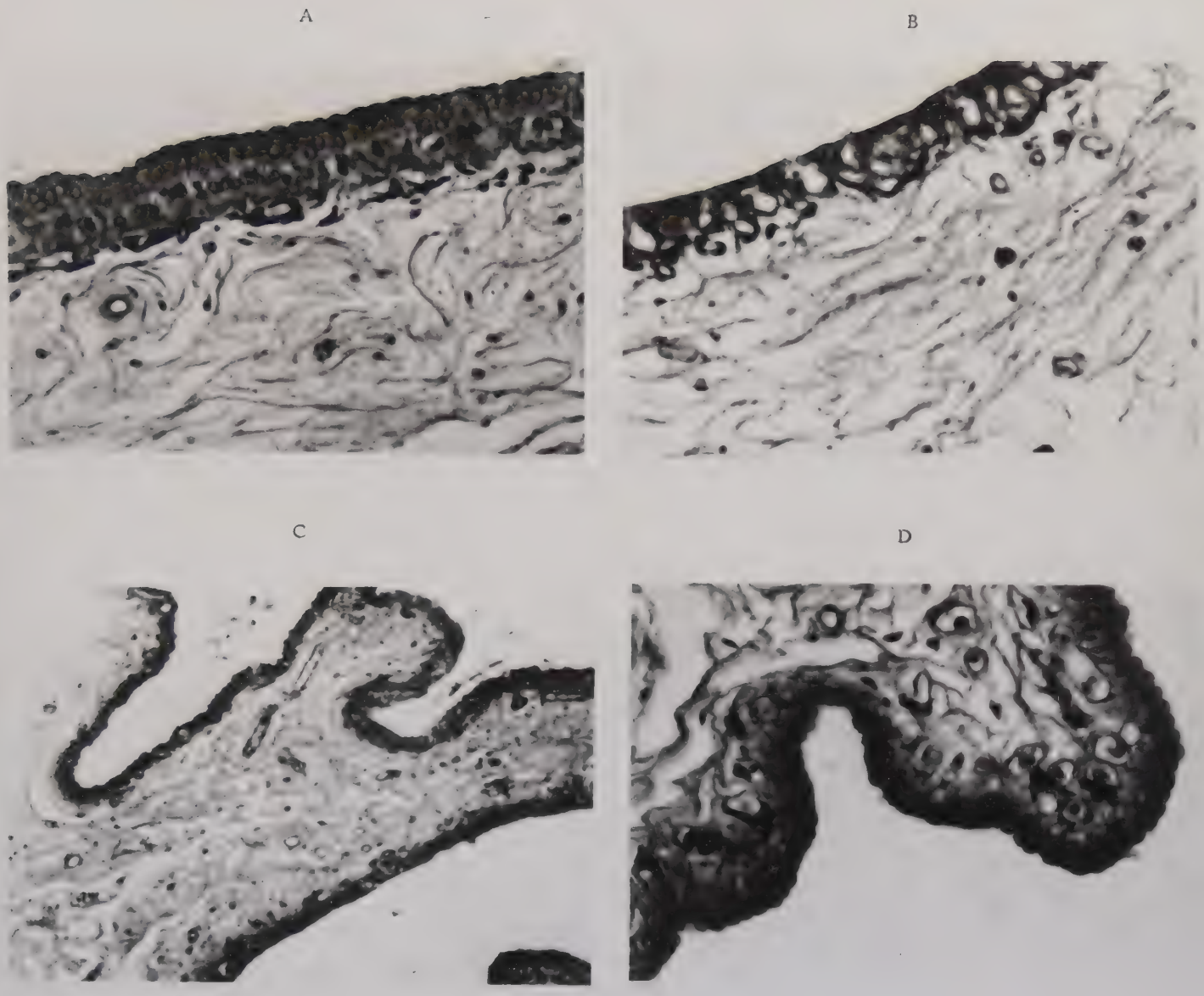
b) 46 jours après la castration. -

4 mâles castrés ont reçu 46 jours après la castration 1250 γ de testostérone en 2 piqûres espacées de 7 jours ; 11 jours après le début des injections, ils avaient reconstitué une structure interne du marsupium comparable à celle des mâles mûrs témoins : tissu conjonctif fortement développé, quoique moins que celui des témoins, diamètre nucléaire de l'épithélium compris entre 4,2 et 4,8 µ.

3°) Hypophysectomie de mâles mûrs (fig. 20 C, p. 61). -

10 mâles mûrs ont été hypophysectomisés, puis sacrifiés après l'opération dans des délais variant entre 8 et 44 jours. On constate ici aussi une hypoplasie des structures internes du marsupium, mais beaucoup moins prononcée que dans le cas de la castration. Le conjonctif est moins réduit (quoique ses fibres soient fines, la substance fondamentale peu colorable et la vascularisation sensiblement plus faible), l'épithélium est affaissé et ses noyaux ont un diamètre moyen inférieure à celui des témoins (4 µ au lieu de 5 µ).

4 mâles hypophysectomisés ont reçu dès le 3e jour après l'opération 375 γ de propionate de testostérone en 3 injections espacées de 5 jours ; 20 jours après l'opération le marsupium est presque identique aux marsupiums des mâles mûrs témoins.



-. Fig. 21 .-

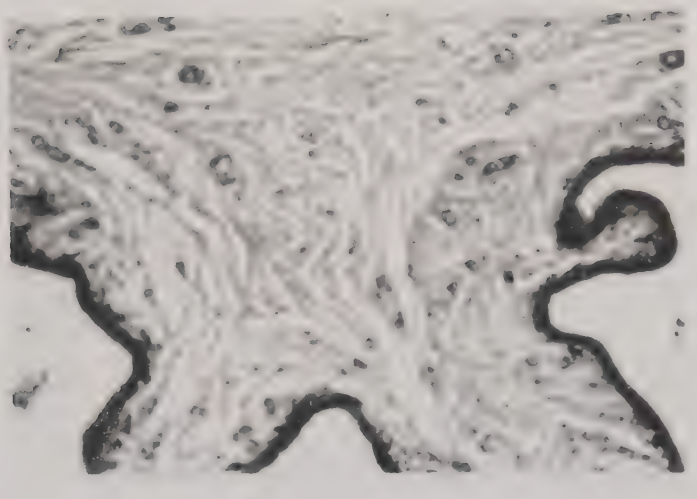
A : Epithélium marsupial de mâle mûr (x 510)

B : Epithélium marsupial d'un mâle mûr castré depuis 30 jours (x 510)

C : Tissu conjonctif et épithélium de mâle mûr castré et traité par la testostérone (x 330)

D : Détail de la figure C (x 510). Les structures marsupiales sont restituées à un niveau sub-normal.

A



B

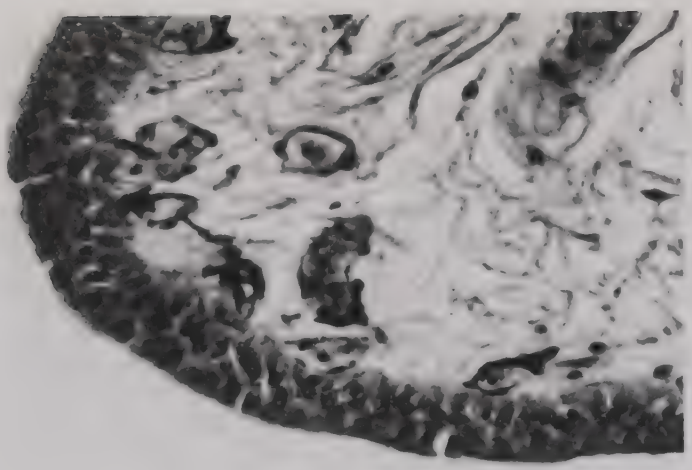


Fig. 22 : MALE EN INVOLUTION NORMALE TRAITE PAR LA TESTOSTERONE

A : Vue d'ensemble (x 330

B : Détail (x 510) : stimulation de la formation d'expansions épithélio-conjonctives.

4°) Injection de testostérone à des mâles normaux (fig. 22, p. 64). -

J'ai choisi des mâles de septembre ayant expulsé leurs embryons en juin, se trouvant donc au maximum de leur involution génitale.

7 mâles ont reçu entre 2 et 10 injections de 125 γ de propionate de testostérone espacées de 4 jours ; chaque fois la structure interne du marsupium a été reconstituée de façon comparable à celle des mâles mûrs. Cependant, les proliférations conjonctives induites, ainsi que l'augmentation de la taille des noyaux épithéliaux, sont toujours restées assez nettement inférieures à celles des témoins mûrs.

En conclusion, l'élaboration des structures internes du marsupium est sous déterminisme testiculaire; la castration déclenche l'involution rapide de ses structures ; l'injection de testostérone peut la prévenir, ou rétablir des structures normales après son apparition.

L'hypophysectomie entraînant l'involution du tissu interstitiel du testicule déclenche elle aussi l'hypoplasie du tissu conjonctif et de l'épithélium marsupiaux. Cependant, cette action est beaucoup plus lente. Cela tient d'une part évidemment à l'existence du relais testiculaire, mais aussi très vraisemblablement à d'autres actions hormonales synergiques (voir Chapitre VII).

VI. - ETUDE DU CYCLE SEXUEL FEMELLE - STRUCTURE DE L'OVAIRE , OVOGENESE, ATRESIE OVULAIRE. -

1°) Morphologie des ovaires. -

Les ovaires ont la forme de sacs cylindriques pairs, dont le sommet s'insère sous la vessie natatoire, en général au niveau de la plaque dermique latéro-moyenne VIII. Ils sont suspendus par un mésoarium longitudinal à la paroi dorsale de la cavité générale et descendent vers l'anus en

restant pratiquement rectilignes. Peu avant lui (au-dessous de la plaque latéro-marginale XIII) ils confluent sur la ligne médiane en donnant naissance à un oviducte unique, stérile, très court (1 à 2 mm), qui s'ouvre en biseau dans la partie moyenne du proctodœum.

L'ovaire reste toujours compris entre ces deux insertions fixes (8e vertèbre-anus) et varie très peu en longueur (exception faite d'un allongement corrélatif de celui du corps de l'animal). Il existe donc toujours une relation étroite, indépendante de l'état sexuel, entre la longueur de l'ovaire et la longueur du corps, rendant inutile les mensurations de la longueur des ovaires. En revanche, le diamètre de l'organe variera considérablement au cours de la vie sexuelle et passera pour un Hippocampe femelle adulte de 1,8 à 5,9 mm.

2°) Anatomie histologique (fig. 23 A, p. 67). -

L'ovaire des Syngnathidés en général, et des Hippocampes en particulier, bien que répondant au schéma général des ovaires de Téléostéens a une forme spéciale qui a depuis longtemps frappé les auteurs : RATHKE (1836) et BROCK (1878), qui l'avaient mal interprétée, puis Mac LEOD (1881) qui fut le premier à en saisir l'architecture, enfin CUNNIGHAM (1898), HUOT (1902), WALLACE (1904) et RAUTHER (1925) qui en donnèrent de bonnes descriptions.

Sur coupe, il se présente de la façon suivante : la paroi ovarienne à peu près circulaire est formée en majeure partie de fibres musculaires lisses, circulaires pour la plus grande part, entremêlées de quelques fibres conjonctives ; elle est plus ou moins épaisse suivant l'état de maturation des ovocytes, donc de la distension qu'ils entraînent. La présence de cette couche musculaire semble assez générale chez les Téléostéens ; BROCK (1870), FRANZ (1910), WALLACE (1904), CLARK (1925), entre autres, la signalent chez différentes espèces et CLARK fait justement remarquer qu'elle doit jouer un rôle important dans l'extrusion des œufs.

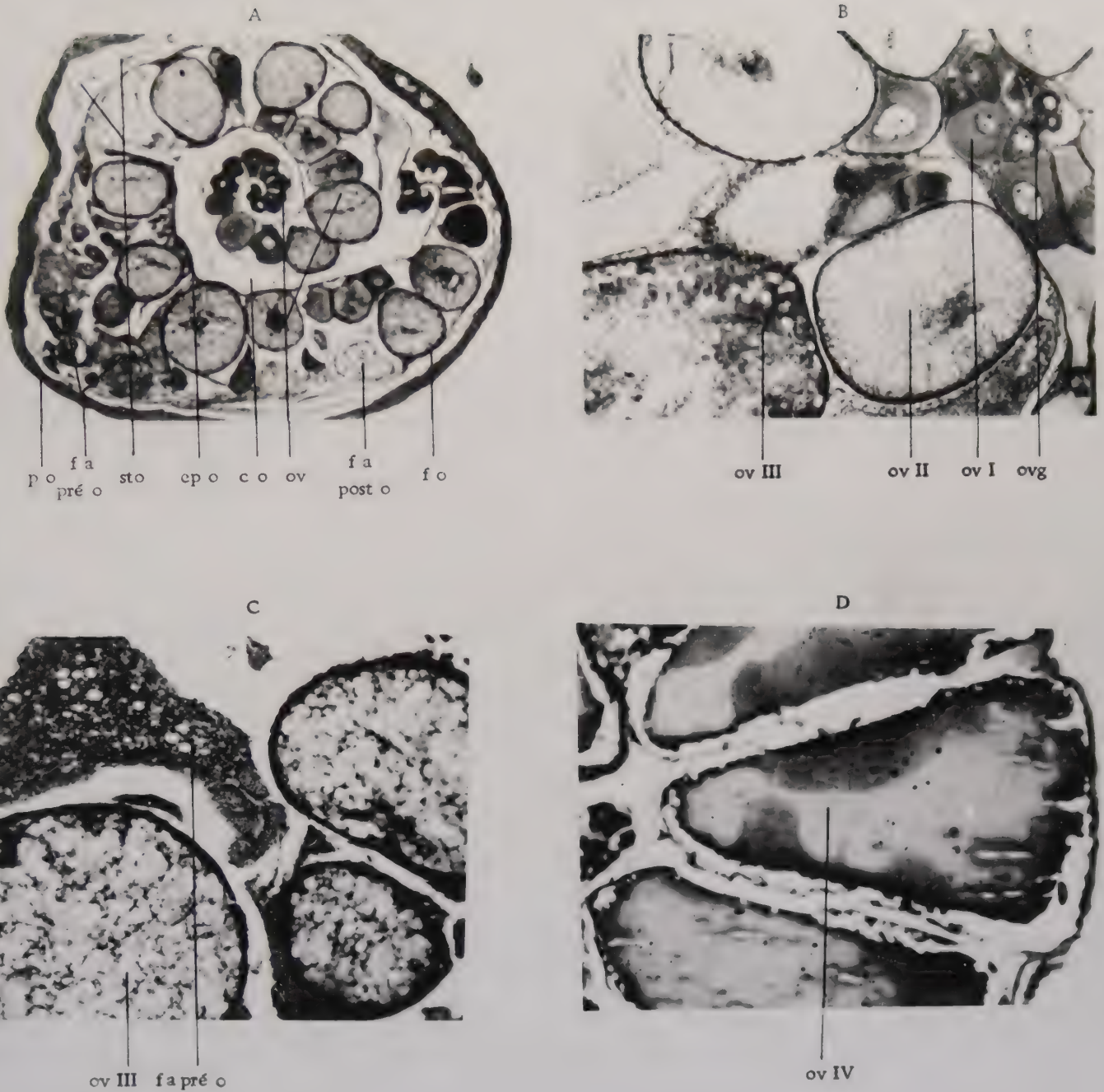


Fig. 23 : STRUCTURE DE L'OVAIRE

A : Disposition générale (x 45)

B C D : Détail (x 130), ovocytes des stades I, II, III, IV.

c o : cavité ovarienne ; f a pré o : follicule atrétique pré-ovulaire ; f a post o : follicule atrétique post-ovulaire ; ep o : épithélium ovarien ; f o : follicule ovarien ; ov : ovocytes à différents stades ; ovg : ovogonies ; p o : paroi ovarienne ; st o : stroma ovarien

A l'extérieur de cette paroi musculaire, une couche de tissu conjonctif lâche, très peu épaisse sauf au niveau du mésoarium, entoure complètement l'organe. De nombreux vaisseaux sanguins y circulent, particulièrement dans la zone d'insertion du mésoarium.

A l'intérieur, l'épithélium ovarien se présente sous la forme de deux crosses enroulées sur elles-mêmes, soit toutes deux centrales, soit le plus souvent, l'une centrale, l'autre tangente à la paroi ovarienne. Entre ces crosses,et limitée par un épithélium cilié cubique, voire parfois cylindrique, se trouve la cavité ovarienne. L'épithélium germinatif est localisé tout à l'extrémité de ces crosses, et donne naissance à des ovocytes, qui, au cours de leur croissance, gagnent la partie opposée de l'ovaire.

Entre ces ovocytes à différents stades de leur croissance et entourés de leurs follicules se trouve le stroma conjonctif ovarien ; il est peu développé chez l'Hippocampe et n'est guère visible qu'entre les ovocytes et la paroi externe de l'ovaire. Il est remarquable de constater que les ovaires d'Hippocampes contiennent relativement peu d'ovocytes. En moyenne, sur 6000 ovocytes comptés sur un ensemble de 119 femelles, une coupe transversale intéresse 37 ovocytes. Ce nombre réduit est sans aucun doute en relation avec les modalités particulières de la reproduction.

3°) Les cellules germinales (Fig. 23, p. 67). -

Il y a peu de travaux consacrés à l'ovogenèse des Syngnathidés (HUOT, 1902 ; RAUTHER, 1925), alors qu'ils sont très nombreux concernant les autres Téléostéens. Les plus importants sont ceux de BROCK (1878), Mac LEOD (1881), CUNNINGHAM (1895), WALLACE (1904), consacrés à différents Téléostéens marins ; FRANZ (1909) étudie Pleuronectes, KUNTZ (1913) Gambusia, MEIEN (1927) Perca, HANN (1927) Cottus, CRAIG-BENNETT (1931) Gasterosteus, HICKLING (1935) Merlucius, GUERBILS'KY (1930), HOAR (1955), BEACH (1959) Cyprinus, BOUGIS (1942) Mullus, STENGER (1959) Mugil, auxquels il faut ajouter des travaux plus spécialement consacrés aux phénomènes hystophysiologiques ou histochimiques de la

vitellogenèse : CHAMPY et GLEY (1923), KONOPACKA (1935), MARZA, MARZA et GUTHRIE (1937), ARNDT (1956), STAHL et LERAY (1961).

A la suite de ces auteurs, je distinguerai dans l'ovaire de l'Hippocampe au cours de la vie sexuelle, les éléments suivants :

a) Les oogonies. -

Ce sont des éléments de petite taille dont le diamètre varie entre 5 et 10 µ. Elles possèdent peu de cytoplasme, mais un noyau volumineux, sphérique, clair. Elles sont localisées à la toute extrémité des crosses ovariennes et forment donc deux bourrelets germinatifs parallèles à l'axe longitudinal de l'ovaire. Plus ou moins visibles suivant l'époque de l'année, on retrouve à leur niveau les figures décrites par HICKLING (1935) à propos des oogonies de Merluccius.

b) Les ovocytes (fig. 23,A, B, C et D, p. 67). -

D'après les travaux cités, mais surtout ceux de ARDNT (1956) et STAHL et LERAY (1961), on peut distinguer 4 stades successifs dans l'ovogenèse ; ce sont :

Stade I. - ou ovocyte jeune ; le diamètre est compris entre 15 et 100 µ. Le cytoplasme est fortement acidophile et ne comporte pas d'enclaves cytoplasmiques. Le noyau possède de nombreux nucléoles disposés à sa périphérie.

Stade II. - ou première phase d'accroissement ; le diamètre va de 100 à 500 µ. Le cytoplasme est basophile ; on voit apparaître à sa périphérie et se disposer sur plusieurs rangs des vacuoles corticales à contenu PAS positif. Le noyau ovale comporte de nombreux nucléoles.

Stade III. - ou deuxième phase de la vitellogenèse, le diamètre va de 400 à 600 µ. Le cytoplasme se remplit d'enclaves lipoprotidiques ; les vacuoles sont refoulées à la périphérie où elles n'occupent plus qu'une zone étroite. Une zona radiata ("oolemma" des auteurs allemands) apparaît et s'épaissit progressivement.

Stade IV. - Ce sont les ovocytes en fin de maturation ou parvenus à maturité. Leur diamètre moyen oscille entre 500 et 1200 µ. Les sphérules vitellines fusionnent et les vacuoles corticales disparaissent. La zona radiata se consolide encore et le noyau effectue une migration périphérique.

c) Les follicules. -

Dès l'origine, les ovocytes des Téléostéens sont entourés d'un follicule ovulaire ; peu visible au stade I où il n'est formé que de quelques cellules très aplaties, il devient très apparent dès le stade II. Ce follicule a été

étudié depuis longtemps notamment par BROCK (1878), WALLACE (1903) RETZIUS (1912), BRETSCHNEIDER et DUYWENE de WIT (1940). Ces auteurs sont d'accord pour distinguer de l'extérieur vers l'intérieur :

- La thèque folliculaire, ou membrane thécale, formée de tissu conjonctif issu du stroma ovarien. En principe, elle est constituée d'une thèque interne compacte et d'une thèque externe plus lâche (BRETSCHNEIDER, l.c.) ; je n'ai jamais pu distinguer chez l'Hippocampe qu'une seule couche (comme d'ailleurs COOPER (1952) chez Pomoxis.)

- L'épithélium folliculaire ou granulosa, simple, séparé de la précédente par sa basale ou membrane propre du follicule.

4°) Les follicules atrétiques. -

Dans la plupart des ovaires étudiés, on trouve des follicules atrétiques qui sont le siège de remaniements complexes. Cette atrésie a été très abondamment étudiée chez les Poissons notamment par WALLACE (1902), CHAMPY et GLEY (1923), NICHITA (1928), HETT (1933), GRYAZEVA (1936), BRETSCHNEIDER et DUYWENE de WIT (1940), HISAW et HISAW (1947), MENDOZA (1940), STOLK (1951), CHIEFFI (1961), HONMA (1961) et leur interprétation a fait l'objet de très nombreux travaux.

Chez l'Hippocampe, comme chez les autres poissons, il existe deux types de follicules atrétiques, selon qu'ils sont pré- ou post-ovulaires.

a) Les follicules post-ovulaires (fig. 24, p. 71). -

Les aspects histologiques observés chez l'Hippocampe sont très comparables à ceux décrits par CHIEFFI (1961) chez Torpedo et par HONMA (1961) chez Plecoglossus. Après sa dehiscence, le follicule s'aplatit ; la thèque s'épaissit modérément, la granulosa beaucoup plus, mais les contours des cellules sont indistincts et elles paraissent optiquement vides. La forme et la taille des noyaux sont irrégulières ; ils sont peu nombreux et disposés vers la cavité centrale du follicule qui reste vide. L'épaississement de la thèque et de la granulosa qui apparaît précocement est peut-être seulement dû à la brusque rétraction de la paroi folliculaire.

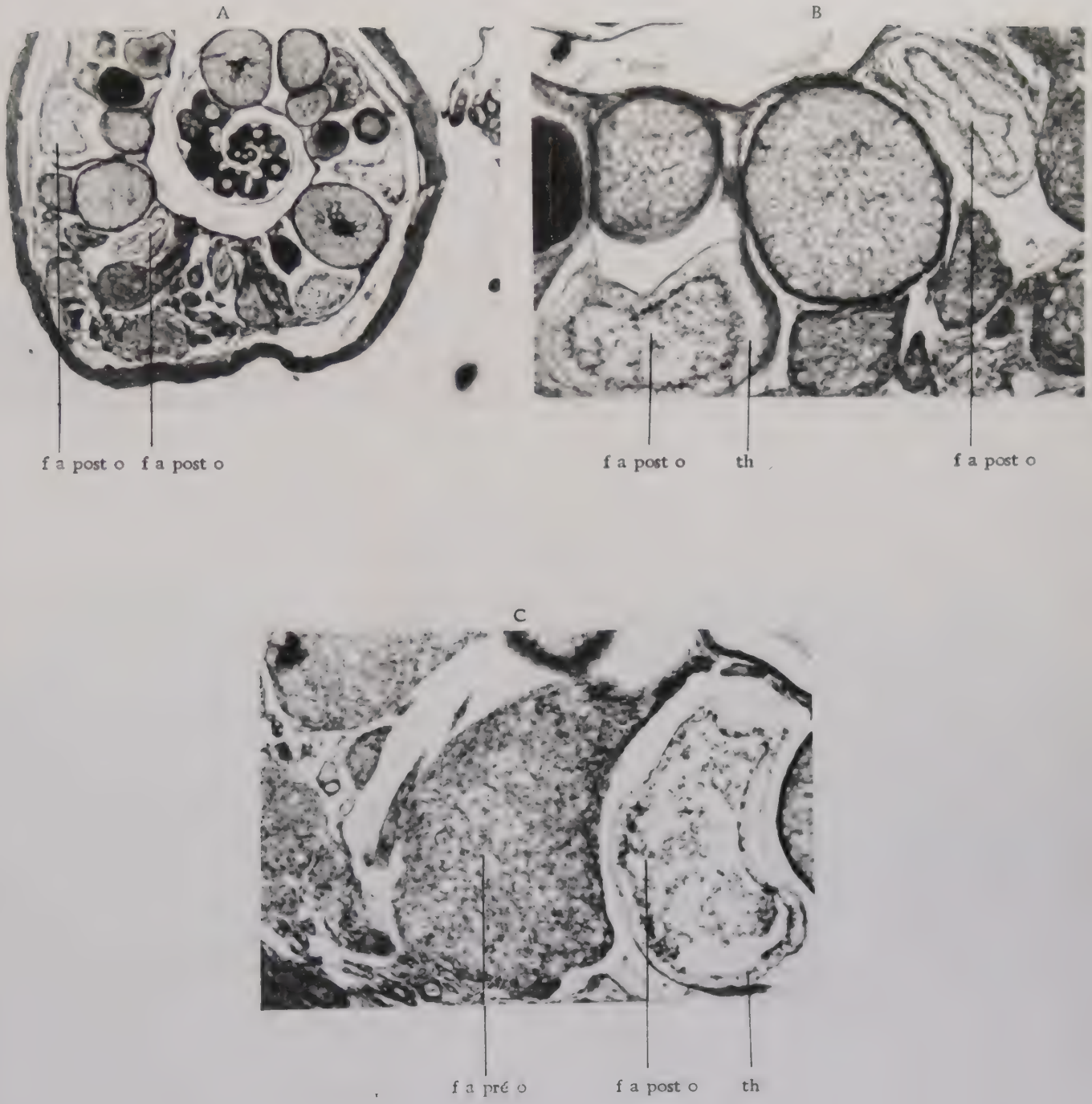


Fig. 24 : FOLLICULES ATRETIQUES POST OVULAIRES

A : (x 45)
B : (x 130)
C : (x 330)

f a post o : follicule atrétique post-ovulaire ; f a pré o : follicule atrétique pré-ovulaire ; th : thèques.

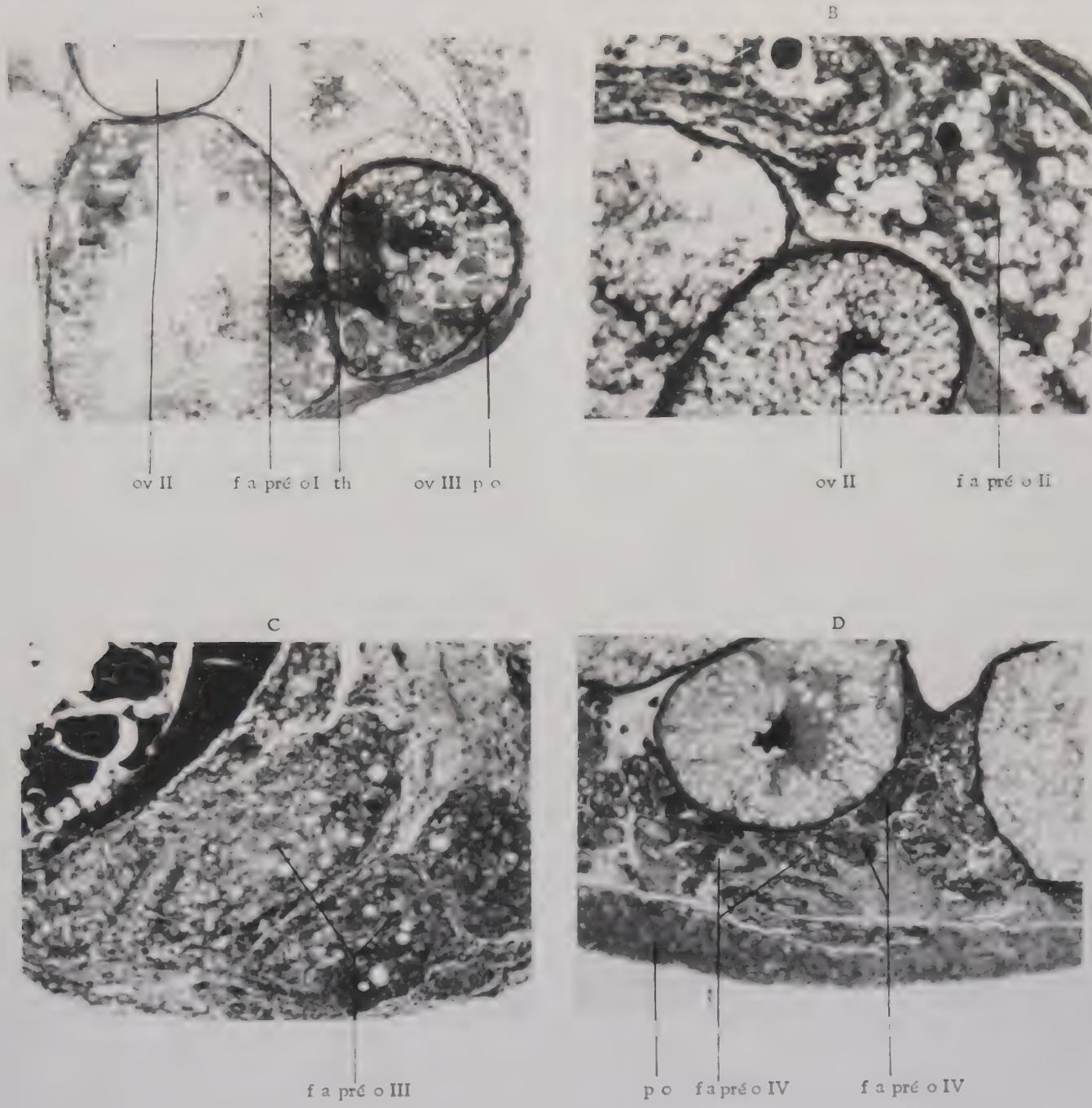


Fig. 25 : FOLLICULES ATRETIQUES PRE-OVULAIRES.

A : Stade I (x 130)
B : Stade II (x 330)
C : Stade III (x 330)
D : Stade IV (x 130)

fa pré o (I, II, III, IV) : follicules atrétiques pré-ovulaires (stades I, II, III, IV) ; p o : paroi ovarienne ; ov(II, ovocytes (stades II, III) ; th : thèques.

Petit à petit, la taille de ce follicule diminue, la thèque s'épaissit beaucoup et la granulosa se désagrège, diminue de plus en plus et en définitive subit une sclérose fibreuse. Finalement, on aboutit à de petites masses de tissu, vaguement rondes, plus ou moins festonnées, fortement basophiles, se présentant sous la forme de 2 couronnes plissées concentriques, l'une représentant ce qui reste de la thèque, l'autre ce qui reste de la granulosa.

Le processus de résorption se continue par la colonisation de ces structures par des vaisseaux sanguins, la disparition progressive des noyaux, une diminution de taille considérable et une sclérose avancée. Aux stades ultimes les résultats de cette involution sont difficiles à distinguer du stroma conjonctif ovarien. Cette involution dégénérative est extrêmement longue dans ses derniers stades, et dure bien plus de six mois, si bien que l'on trouve de telles structures dans les ovaires de tous les Hippocampes adultes âgés de plus d'un an.

On peut conclure avec CHIEFFI (1961) que le follicule post-ovulaire ne montre jamais de signes d'organisation glandulaire, c'est-à-dire de transformation en corps jaune, mais seulement des phénomènes involutifs caractéristiques de la désagrégation de la granulosa.

b) Les follicules pré-ovulaires (fig. 25, p. 72). -

Les phénomènes de l'atrésie pré-ovulaire chez l'Hippocampe ressemblent beaucoup à ceux décrits par BRETSCHNEIDER et DUYWENE de WIT (1940) chez Rhodeus, par STOLK (1951) chez Lebistes, par HONMA (1961) chez Plecoglossus et même, dans une certaine mesure, à ceux mis en évidence par CHIEFFI (1961) chez Torpedo. Comme ces auteurs, je distinguerai 4 stades successifs dans les processus atrétiques.

Stade I (fig. 25 A, p. 72). - Il débute par l'épaississement marqué des cellules de la granulosa et apparemment aussi par leur augmentation en nombre. En même temps, le contenu ovulaire se liquéfie en partie ou se résoud en fins granules, tandis que la zone radiata se déforme, se perce, et disparaît en certains endroits, par où des cellules granuleuses issues du syncytium folliculaire, s'introduisent et commencent à coloniser le vitellus.

Stade 2 (fig. 25 B, p. 71) . - Le nombre des cellules granuleuses libres augmente considérablement et elles commencent à phagocyter activement le vitellus liquéfié. Le phénomène se développe de façon

centripète ; le vitellus est d'abord phagocyté sur le bord externe de l'ovocyte, puis petit à petit, la colonisation cellulaire en gagne le centre.

Au cours de ce phénomène de nouvelles cellules phagocytaires, au fur et à mesure de leur apparition établissent des connexions avec les cellules plus anciennes qui ont occupé les zones ovocytaires moins centrales que les leurs.

A ce stade, les noyaux sont petits, moulés en coupe sur une énorme vacuole qui occupe tout le corps cellulaire. En coupe, le noyau est plus ou moins triangulaire, le cytoplasme peu visible apparaît comme un mince trait entourant la vacuole centrale (vidée d'ailleurs par le traitement histologique).

La fin de la phagocytose du vitellus signale la fin du stade 2. Au centre de l'ovocyte, peuvent seuls rester encore quelques débris vitellins. Au cours de ce stade, il s'est établi à l'intérieur du follicule, toujours entouré d'une thèque peu épaisse, un véritable tissu issu de la granulosa et formé de cellules fortement vacuolisées, et dont l'aspect rappelle celui d'un tissu adipeux.

Stade 3 (fig. 25 C, p. 72). - Petit à petit, les vacuoles cellulaires se résorbent, le cytoplasme augmente, les corps cellulaires deviennent denses, les noyaux s'arrondissent, augmentent de taille et sont fortement colorables. Ce phénomène lui aussi est centripète. On voit apparaître une structure cellulaire massive, percée par endroit de "lumières aciniformes" (STOLK, 1951). En même temps, la taille du follicule diminue beaucoup, mais il reste cependant toujours plus ou moins elliptique et n'apparaît jamais aplati, comme dans le cas d'un follicule post-ovulaire. A ce stade la thèque est plus visible sans être cependant particulièrement épaissie : de nombreux capillaires sanguins apparaissent aussi bien dans la thèque que dans la masse cellulaire qui vient de se former. En définitive, il se constitue au centre de ce follicule une structure de type glandulaire, histologiquement comparable au corps jaune des Vertébrés supérieurs, et dont la fonction chez les Poissons est fortement discutée.

Stade 4 (fig. 25 D, p. 72). - Après avoir atteint son développement maximum au stade précédent, le follicule atrétique va entrer en involution : la thèque s'épaissit considérablement, les cellules granuleuses diminuent beaucoup en nombre et en taille, les noyaux deviennent plus petits et allongés, les "lumières aciniformes" se comblent et sont colonisées par des vaisseaux sanguins thécaux. Souvent la masse granuleuse se plisse et se rétracte à l'intérieur de la thèque.

Le phénomène involutif se continue par la diminution progressive du nombre des cellules granuleuses qui se sclérosent en acquérant une basophilie prononcée. La thèque s'épaissit et se rétracte. L'ensemble du follicule se ratatine sur lui-même et l'on retrouve les structures en couronnes emboitées décrites à propos des follicules post-ovulaires. Petit à petit, au cours d'une involution très lente, ces masses circulaires dont le centre est souvent occupé par un vaisseau sanguin décroissent et disparaissent.

A ce stade, les follicules pré-ovulaires sont indiscernables des follicules post-ovulaires.

A l'encontre de BRETSCHNEIDER et DUYWENE de WIT et de STOLK, mais comme HONMA, je n'ai jamais rencontré de pigments dans les derniers stades de l'atrésie pré-ovulaire.

5°) Le cycle saisonnier. -

Le cycle saisonnier des ovaires de Téléostéens a été l'objet de très nombreuses recherches, sur des espèces extrêmement variées ; les plus complètes sont celles de WHEELER (1924) sur Pleuronectes, CLARK (1925) sur Leuresthes, HANN (1927) sur Cottus, MEIEN (1927) sur Cyprinus,

CRAIG-BENETT (1931) sur Gasterosteus, BAILEY (1933) sur Xiphophorus, TURNER (1937) sur les Pœcilidae, MATTHEWS (1938) sur Fundulus, BULLOUGH (1939-1942) sur Phoxinus, GUERBILS'KY (1939) sur Cyprinus, MENDOZA (1940, 1942, 1943, 1962) sur Neotoca et des poissons ovipares, VIVIEN (1941) sur Gobius, JAMES (1946) sur Lepomis et Huro, BOUGIS (1952) sur Mullus, COOPER (1952) sur Pomoxis, VERHOEVEN et Van OORDT (1955) sur Rhodeus, BEACH (1959) sur Carassius.

Si les phénomènes restent en gros très comparables, d'importantes différences apparaissent au niveau de l'acquisition de la puberté, du mode de maturation des œufs, de la durée et de l'époque de la ponte.

Chez l'Hippocampe, la période de ponte est typiquement estivale (juin-juillet); cependant, on trouve des animaux en reproduction de mai à septembre, comme nous l'avons vu à propos du cycle sexuel mâle, ce qui peut entraîner d'importants décalages de la gamétogenèse d'un individu à l'autre. D'autre part, les phénomènes ne seront pas identiques suivant que l'on considère les individus de moins d'un an réalisant leur première maturation ovulaire, ou plus âgés recommençant un cycle sexuel.

Aussi pour plus de clarté exposerai-je d'abord les faits relatifs à une femelle, âgée de plus d'un an et pondant en juin. J'étudierai ensuite rapidement les variantes que peut présenter ce cycle typique.

Au cours de l'ovogénèse, plusieurs phénomènes se déroulent simultanément. Pour les saisir, je comparerai les ovocytes de la région moyenne des ovaires à chaque mois de l'année :

1°) soit en comparant les proportions relatives approximatives des ovocytes de chaque stade,

2°) soit en comparant leurs poids relativement au poids total des ovocytes,

3°) soit en comparant l'importance relative des classes de taille à l'intérieur de chaque stade.

a) Proportions relatives des ovocytes de chaque stade. -

1 - Du mois de juillet (animal ayant pondu) au mois de février inclus, on ne trouve dans les ovaires, outre les ovogonies, que des ovocytes de stade I et II. Le stade III ne se rencontre qu'en mars-avril-mai, le stade IV seulement en avril-mai-juin-juillet.

2 - Hors de la période de grand accroissement et de reproduction, les deux stades présents (I et II) sont à peu près également nombreux.

3 - Le déclenchement de la maturation définitive n'intéresse en général qu'une proportion faible des ovocytes présents, toujours moins de 25 %. La presque totalité (environ 95 %) des ovocytes ayant atteint le stade III, atteindront le stade IV. Les 5 % restant seront éliminés rapidement (ils ne paraissent plus à partir du mois de mai).

4 - Du mois d'août au mois de décembre, il y a moins d'ovocytes de stade I que du stade II ; minimum en août, la proportion des stades I augmentera régulièrement jusqu'au mois de février, en raison soit d'une oogenèse continue, soit d'une élimination d'ovocytes de stade II, soit de ces deux phénomènes simultanément.

5 - De la même façon, la réduction progressive du nombre des stades I de mars à août laisse supposer une disparition ou tout au moins une diminution importante de l'ovogenèse pendant ce temps.

b) Importance relative en poids des différents stades par rapport au poids total de l'ovaire. (fig. 26, p. 77). -

La technique utilisée est la suivante : on dessine sur du bristol au microscope et à la chambre claire (grossᵗ. réel x50) les différents ovocytes d'une coupe transversale de la région moyenne de l'ovaire. Ces ovocytes sont ensuite découpés, rassemblés en 5 groupes correspondant aux stades I, II, III, IV et aux follicules atrétiques ; chaque groupe est pesé séparément et on calcule le pourcentage de poids qu'il représente par rapport au poids total de tous les groupes réunis. L'ovaire étant à peu près cylindrique

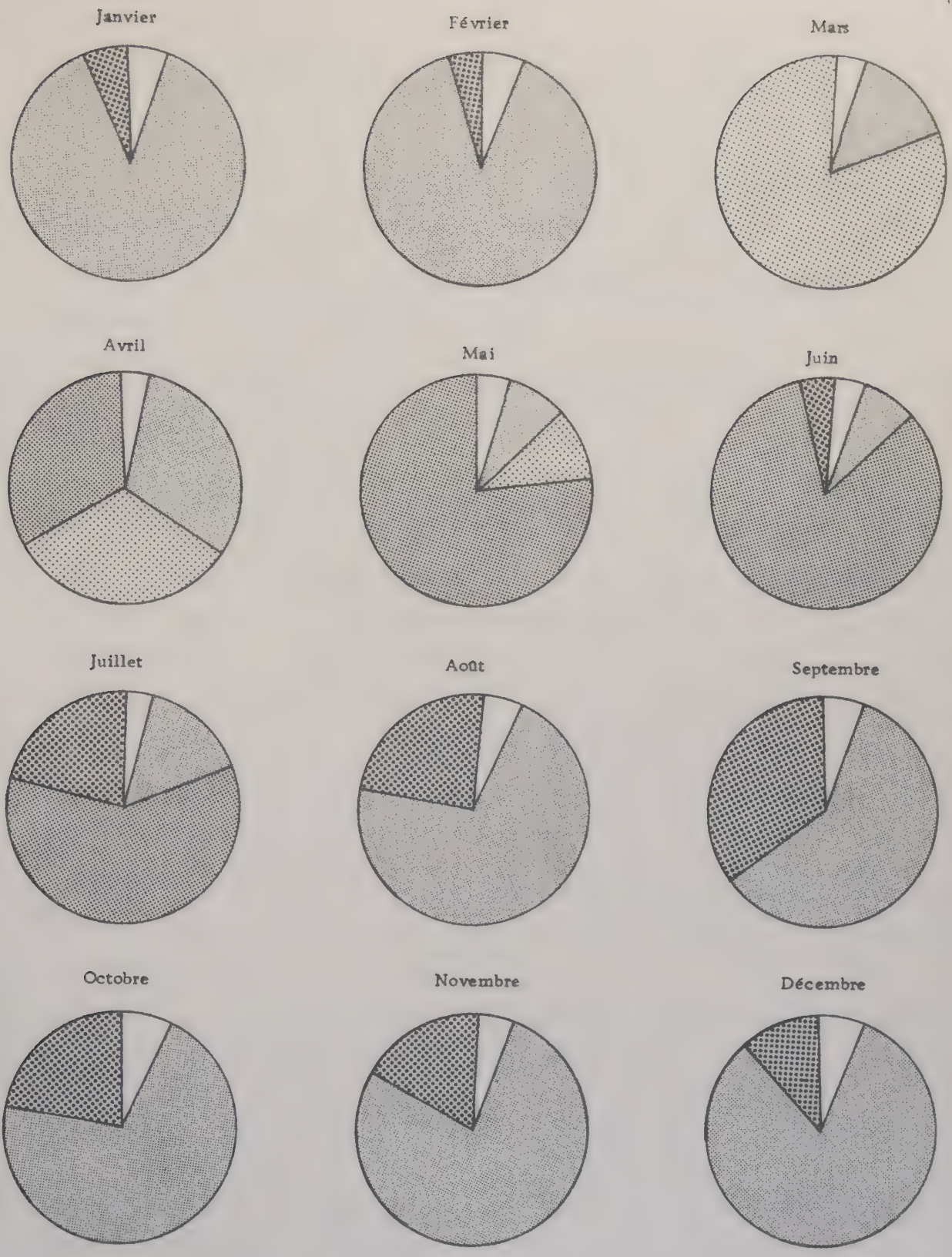


Fig. 26 : Importance relative en poids des différents stades par rapport au poids total de l'ovaire .

je postule que le poids d'une coupe transversale est proportionnel au poids total de l'ovaire.

Outre, évidemment, la même répartition dans le temps des différents stades que celle montrée ci-dessus, on voit :

1°) que le poids du stade I est minime, toujours inférieur à 8 % du poids total, en général de 3 % environ,

2°) qu'en dehors de la période de vitellogenèse active le stade II représente 60 à 80 % du poids total de l'ovaire,

3°) que si la vitellogenèse n'intéresse qu'un petit nombre d'ovocytes, le matériel vitellin représente cependant 80 à 90 % du poids de l'ovaire,

4°) qu'au cours de l'année, il y a généralement des follicules atrétiques dans les ovaires ; que cette atrésie débute pendant la vitellogenèse ; un certain nombre d'ovocytes III et IV sont éliminés de cette façon ; qu'elle est maximum après la ponte (jusqu'à 40 % du poids total de l'ovaire) et qu'elle diminue rapidement pour se stabiliser aux environs de 8-10 % pendant les mois d'hiver. Nous verrons ultérieurement quels sont les ovocytes qui font l'objet de cette atrésie et quel est le rythme de cette atrésie.

c) Comparaison de l'importance relative des différentes classes de taille des ovocytes de chaque stade (fig. 27, 80). -

Le stade, dans certaines limites, est fonction de la taille atteinte par l'ovocyte; c'est ainsi qu'en général :

le stade	I comporte des ovocytes de	15 à	100 µ
	II	100 à	500 µ
	III	200 à	800 µ
	IV	500 à	1500 µ.

Comme on le voit ces limites se chevauchent aux extrémités suivant que l'on a affaire à des ovocytes au début ou à la fin du stade considéré, défini par les critères énoncés ci-dessus.

Des mensurations ont été réalisées sur chaque ovaire de façon à ranger les ovules dans les classes de taille suivante :

Stade I de 20 à 100 µ par classe de 19 µ : 20-39 ; 40-59 ; etc...
Stade II, III, IV de 100 à 1500 µ par classe de 99 µ : 100-199 ; 200-299 ; etc...

En principe, pour chaque ovaire, on mesure 100 ovocytes de chaque catégorie et on reporte sous forme de kite le nombre d'ovocytes par classe de taille. Les résultats obtenus sont transcrits sur la fig. 27 p. 80 . En outre, les poussées oogoniales sont indiquées par des flèches dont la longueur est proportionnelle à leur importance. On voit ainsi que :

1°) Aux poussées oogoniales importantes irrégulièrement réparties au cours de l'année (décembre, février, avril, août) fait suite, dès le mois suivant, une poussée d'ovocytes jeunes de stade I, de petite taille, très nettement distincts des ovocytes II dont ils sont en général séparés par un hiatus.

2°) Au cours du mois suivant, les ovocytes II grandissent régulièrement jusqu'aux environs de 100 µ, taille critique à partir de laquelle apparaissent les premiers ovocytes III. Le passage se fait continuellement sans que la croissance s'arrête.

3°) Les poussées oogoniales sont pratiquement arrêtées en mai, juin, et juillet ; en même temps la croissance des ovocytes I et II est fortement ralentie.

4°) Le stade IV est atteint, suivant les individus, par des ovocytes de taille assez différente ; ces ovocytes ensuite grandissent régulièrement jusqu'aux environs de 1000 µ.

5°) A partir de juin, on voit disparaître les stades III n'ayant pas atteint la maturité définitive et une partie des stades II amenés par leur croissance aux environs de la taille critique de 400 µ, ceci jusqu'en septembre où les plus grands ovocytes II restent aux environs de 300 µ. Cette régulation interne des stades et des tailles des ovocytes est confirmée par l'atrésie importante dont l'ovaire est le siège à cette époque. On voit apparaître un

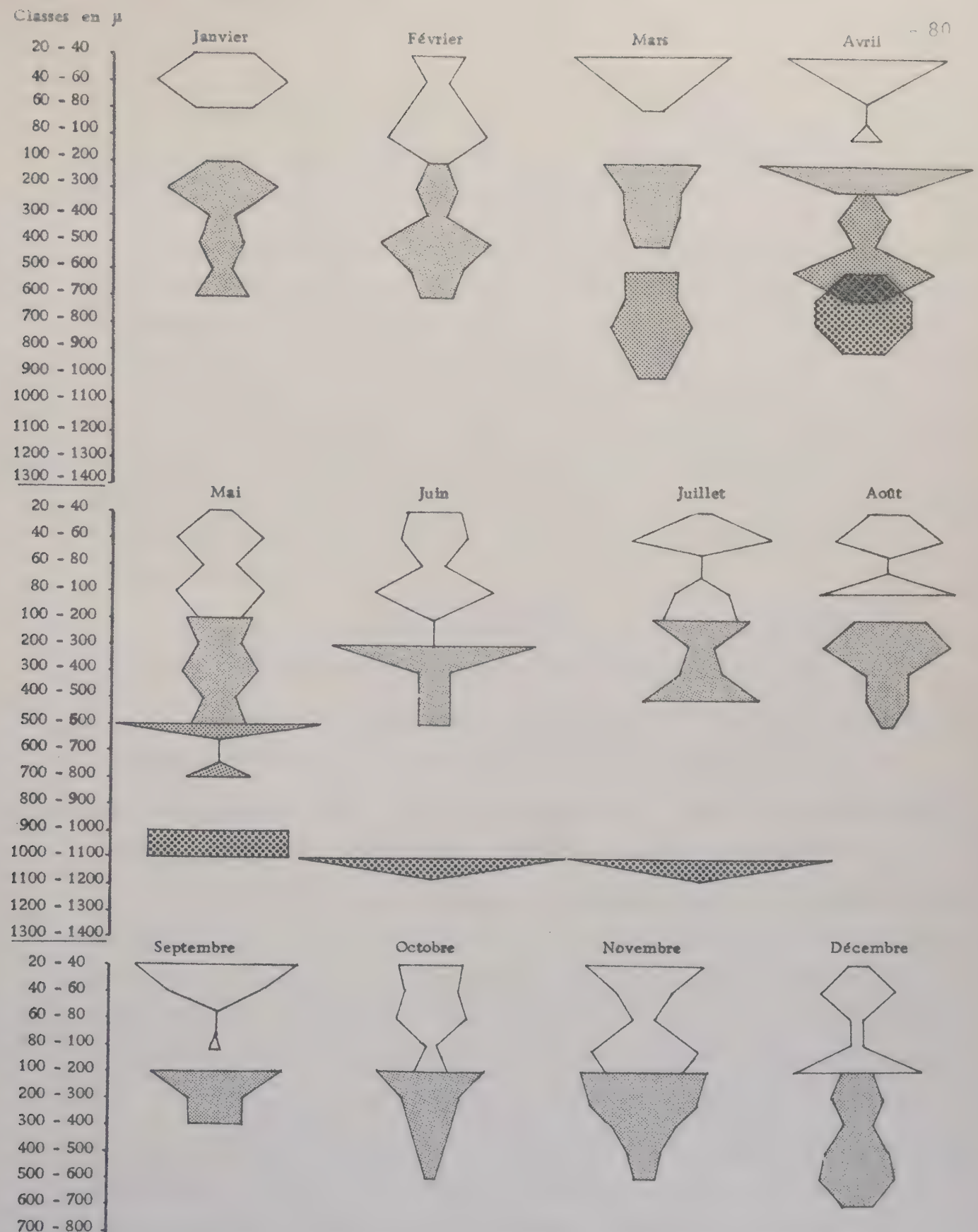


Fig. 27 : Comparaison de l'importance relative des différentes classes de taille des ovocytes de chaque stade.

Stade I Stade II Stade III Stade IV

hiatus important dans la distribution des tailles des ovocytes, aux approches de la maturité, hiatus caractéristique des ovaires de poissons ayant une courte période de ponte (HICKLING et RUTENBERG, 1931).

6°) Septembre marque le début de la réorganisation de l'ovaire, après l'effort de la maturation des œufs. Les petits ovocytes I (issus de la poussée ovogoniale d'août) et une partie des ovocytes II présents dans l'ovaire donneront tout ou partie des œufs mûrs de l'année suivante.

7°) Ainsi, en dehors de la période de maturité génitale, qui peut être très courte, il n'y a pas de période de repos dans l'ovaire d'Hippocampe, qui reste en toutes saisons le siège d'une activité importante soit de vitellogénèse (mars-juin), soit d'oogenèse (août-octobre-février), soit d'atrésie (août-septembre-octobre).

Avec ces différents éléments, nous pouvons établir le cycle ovarien de l'Hippocampe de la façon suivante (fig. 28, p. 82) :

Après le part, les poussées oogoniales de l'été et du début de l'automne mettent en place les ovocytes suivant le schéma suivant :

-poussée de juillet-août ovocytes I en septembre ovocytes II en novembre
-poussée d'octobre ovocytes I en novembre ovocytes II en janvier.

Ces ovocytes se mêlent à ceux qui, issus de la poussée printanière précédente, n'avaient pas entamé leur grand accroissement et avaient passé l'hiver dans cet état. Donc en février, l'ovaire comprend des ovocytes I provenant des poussées d'octobre et peut être d'août et des ovocytes II provenant des poussées oogoniales de février, avril, août, octobre précédents.

Dès le mois de février débute une vitellogenèse active : les ovocytes II subissent un accroissement rapide et une partie d'entre eux atteint le stade III en mars ; cette évolution continue en avril et mai et conduit aux stades IV mûrs en avril, mai, juin, juillet. C'est le cas de beaucoup de poissons.

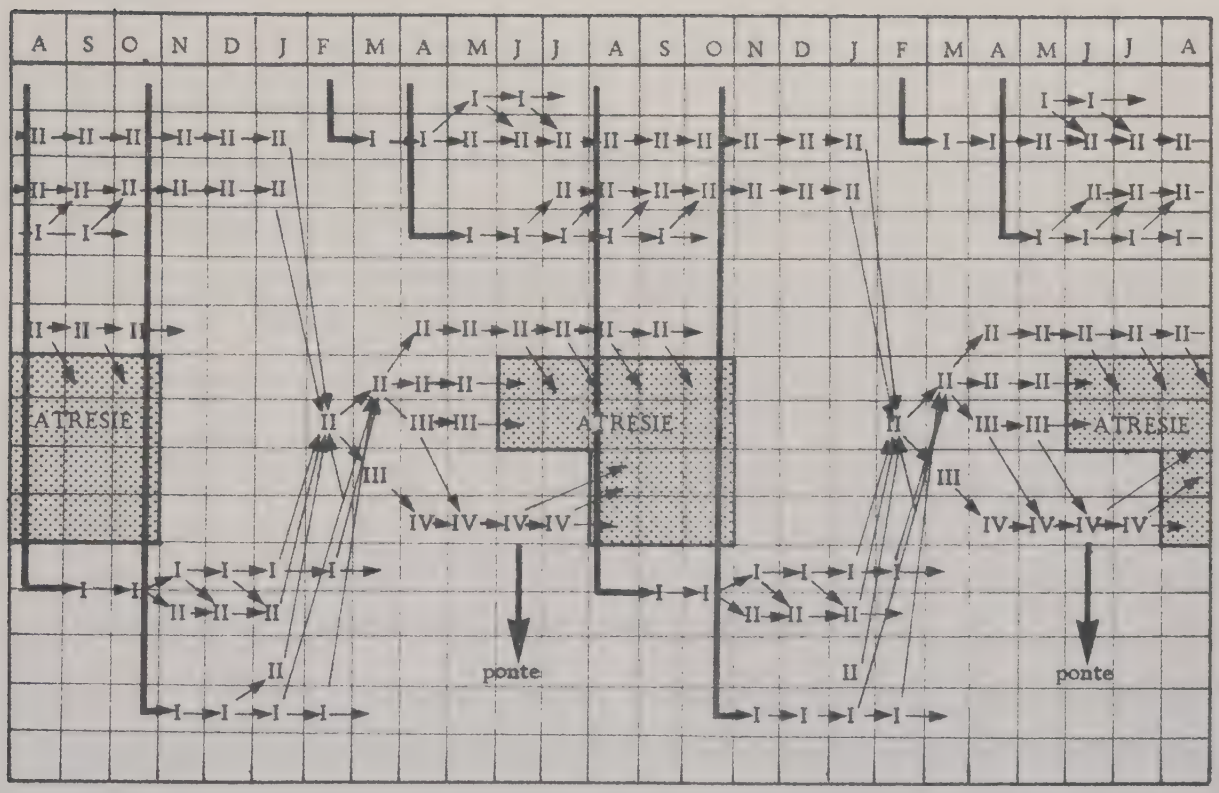


Fig. 28 : L'ovogenèse chez l'Hippocampe

A partir de juin vont se manifester des atrésies : d'abord peu importantes, elles intéressent les ovocytes II ayant dépassé la taille critique, les ovocytes III inemployés et les ovocytes IV peut être trop comprimés par leurs congénères.

En juin a lieu la ponte ; l'atrésie se généralise pour tout ovocyte ayant plus de 300 - 400 µ de diamètre et reste très importante jusqu'en octobre.

Ce qui précède est un schéma simplifié des phénomènes qui se déroulent pendant l'ovogenèse. Les quatre poussées oogoniales que nous avons décrites sont les plus (et les seules) importantes au cours de l'année. Mais ce phénomène n'est pas limité uniquement à ces quatre mois. On peut observer des poussées beaucoup plus discrètes en mai, en juillet, en décembre par exemple, avec de grandes variations individuelles. Chaque fois se forme une poussée plus ou moins réduite d'ovocytes I qui s'intercale entre les principales et subit une évolution parallèle, mais décalée dans le temps.

EN RESUME, nous pouvons distinguer dans le cycle génital femelle de l'Hippocampe les périodes suivantes :

1°) Une période de grande activité de février à juin : vitellogenèse intense, maturation des œufs et mise en place d'ovocytes I et II destinés à former une partie des œufs de l'année suivante.

2°) Une période relativement statique malgré des phénomènes atrétiques assez importants, que l'on peut appeler période de maturité, variable suivant les individus, courte ou longue, en principe s'étendant sur juin et juillet et se terminant à la ponte.

3°) Après la ponte, une période de remaniements ovariens, en août, septembre et octobre. En même temps qu'une atrésie importante élimine tous les ovocytes dépassant 300 µ de diamètre, deux poussées oogoniales successives mettent en place des groupes importants d'ovocytes qui commencent leur petit accroissement.

4°) Une période hivernale de novembre à février, siège d'une ovogenèse relativement rapide qui amène de jeunes ovocytes à se confondre avec ceux dont la formation a débuté 10 mois auparavant.

Ce schéma du cycle sexuel des ovaires est un schéma moyen tiré de l'examen d'une centaine de femelles. Les différences individuelles peuvent être énormes, surtout dans la phase de maturation des ovules. On peut trouver des femelles, rares il est vrai, apparemment prêtes à pondre dès le début d'avril jusqu'au milieu d'octobre et même en janvier (LO BIANCO, 1881). De la même façon, la ponte peut être précoce ou tardive, décalant d'autant le début de la période de remaniements ovariens. Il n'en demeure pas moins que l'enchaînement des phénomènes présidant à la gamétogenèse reste identique.

D'autre part, nous avons exposé précédemment comment de jeunes Hippocampes nés en été entre juin et août atteignent l'année suivante en mars-avril une taille qui leur permet d'assurer leur reproduction ; nous avons décrit (page 49) les premiers stades de la différenciation génitale. A partir d'octobre, les ovaires sont parfaitement reconnaissables sans avoir toujours la disposition en crosse des ovaires d'animaux plus âgés. Les ovocytes dès ce moment se présentent sous les deux stades I et II. C'est ainsi qu'ils passent l'hiver recevant des groupes successifs d'ovocytes I consécutifs à des poussées oogoniales répétées. Ces ovaires se reconnaissent aisément à leur petite taille et à l'absence de toute atrésie jusqu'au début de la maturité sexuelle.

VII. - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA REGION SOUS - ANALE FEMELLE. -

Tout au long de l'année on récolte une proportion variable d'individus femelles (entre 30 et 70 %) qui présentent une tendance, plus ou moins

marquée suivant les individus, à élaborer des structures marsupiales rudimentaires. On voit apparaître dans la région sous-anale de ces femelles, à l'endroit où le marsupium se développe chez le mâle, des formations variables qui rappellent les premiers stades du développement du marsupium chez les jeunes mâles. Ces formations restent le plus souvent abortives, mais conduisent parfois à la formation de marsupiums rudimentaires. La simple observation macroscopique apprend que l'abondance de ces formations varie avec la saison, et qu'elle semble culminer après la ponte au moment de l'atrésie ovulaire. L'importance de la mise en évidence éventuelle d'une action hormonale des follicules atrétiques ovariens -sujet particulièrement controversé (voir BALL, 1960)- m'a amené à poursuivre un certain nombre de recherches expérimentales sur ce problème qui, comme nous allons le voir, s'est révélé particulièrement complexe.

1°) Structure de la région sous-anale normale (fig. 29 A, p. 86).-

A l'observation directe, cette région, dans le cas normal, ne montre aucune particularité. L'épiderme, appliqué sur le derme conjonctif laisse deviner le relief des boucliers ventraux sous-jacents. Il demeure parfaitement lisse, de même couleur et de même texture que l'épiderme caudal latéral.

En coupes, on reconnaît de l'extérieur vers l'intérieur :

- 1 - un épiderme formé d'un épithélium stratifié à 2 couches renfermant un grand nombre de "Flammenzellen" et de grosses cellules caliciformes à mucus,

- 2 - un derme conjonctif dans lequel on peut reconnaître 3 régions superposées :

  - une région supérieure immédiatement sous-jacente à l'épithélium et séparée de lui par une couche importante de chromatophores. Elle est formée de conjonctif dense à nette prédominance fibreuse,
  - une région moyenne renfermant un nombre assez important de fibres élastiques, nettement moins dense que la précédente et renfermant quelques capillaires sanguins,

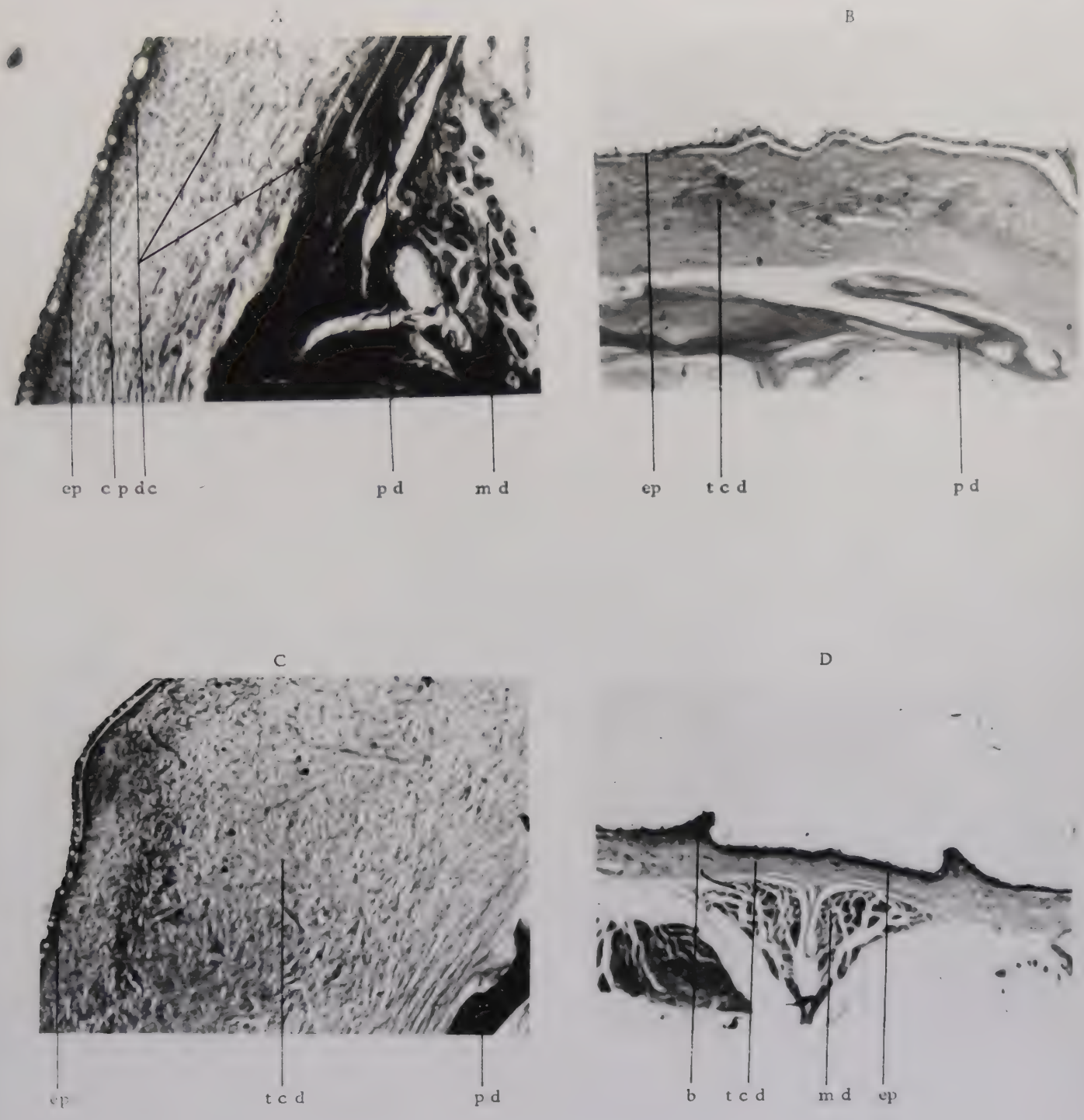


Fig. 29 : REGION SOUS-ANALE FEMELLE

A : Femelle normale (x 130)
B : Femelle anormale : degré 1 (x 45)
C : Femelle anormale : degré 2 (x 45)
D : Femelle anormale : degré 4 (x 45)

b : bourrelet conjonctif ; c p : couche pigmentaire ; d c : les 3 régions du derme conjonctif ; ep : épiderme ; m c : muscles caudaux ; p d : plaque dermique ; t c d : tissu conjonctif dermique.

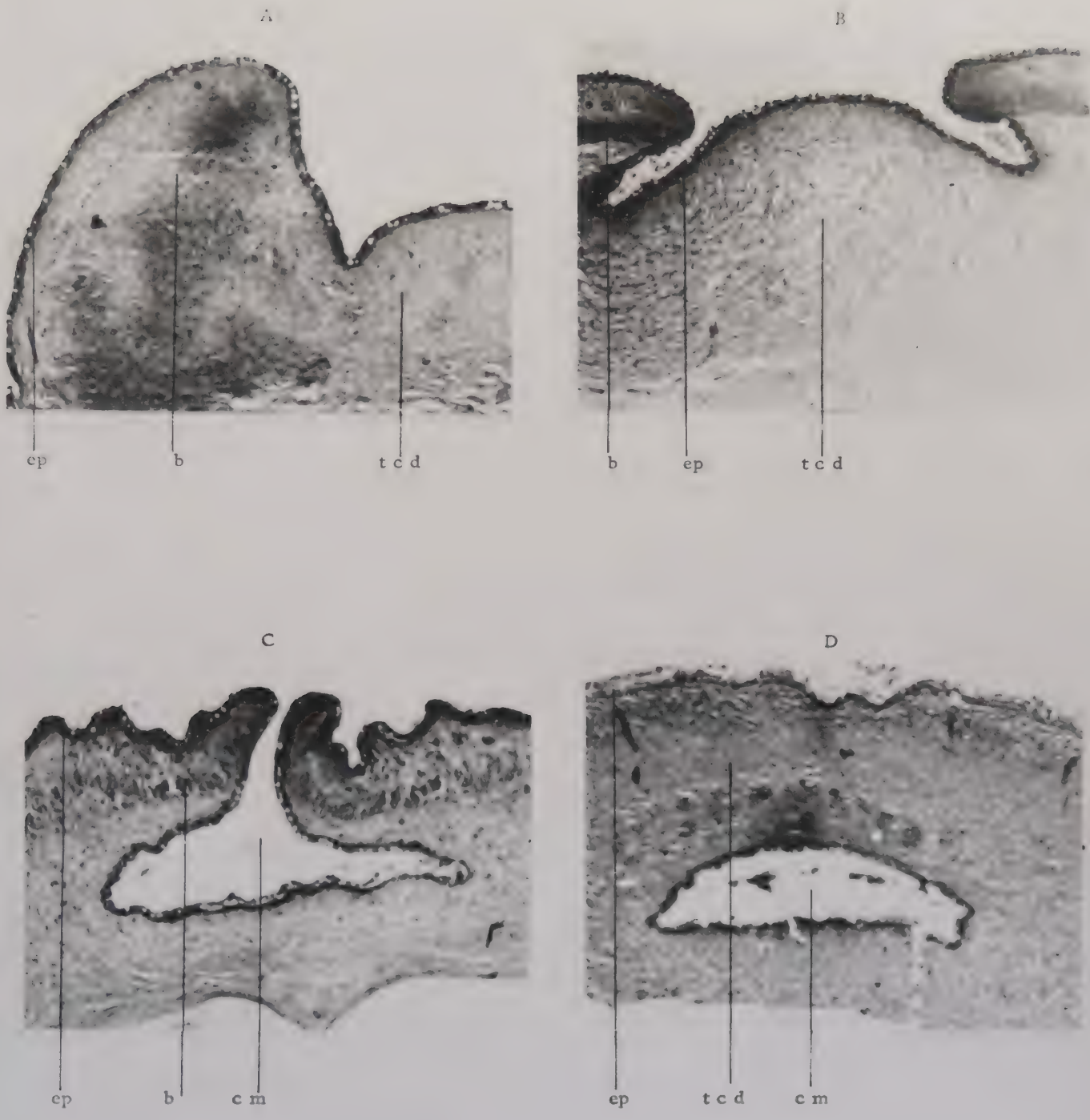


Fig. 30 : ANOMALIES DE LA REGION SOUS-ANALE FEMELLE

A : degré 5 (x 45)
B : degré 7 (x 45)
C : degré 8 (x 45)
D : degré 10 (x 45)

b : bourrelet conjonctif ; c m : cavité marsupiale ; ep : épiderme ; t c d : tissu conjonctif dermique.

- une région profonde appuyée sur les boucliers ventraux formée de conjonctif fibreux très dense.

- 3 - les boucliers ventraux calcifiés se recouvrant en partie par leurs extrémités centrales.

Dans les conditions normales l'épaisseur totale de l'épiderme et du derme sous-jacent est d'environ 500 µ, se subdivisant ainsi : épiderme 30 µ, derme supérieur 120 µ, région moyenne 280 µ, région profonde 80 µ.

L'ensemble donne une impression massive, compacte, les fibres conjonctives sont larges (20 µ), obliques et enchevêtrées dans le derme supérieur, beaucoup plus parallèles et transversales dans les régions inférieures. Les capillaires sont peu nombreux et les espaces entre les fibres très réduits.

2°) Structures anormales de la région sous-anale (fig. 29 et 30, p. 86 et p. 87). -

Macroscopiquement, on peut reconnaître chez les femelles les types suivants d'anomalies sous anales :

a) Il apparaît une aire ovale dont la pigmentation est différente (plus ou moins intense) de celle de la région voisine, bordée d'un tissu non saillant et en général de couleur foncée ; le tissu conjonctif sous-jacent à cette aire est légèrement hypertrophié (fig. 29 A, p. 86).

b) L'aire décrite ci-dessus peut être présente ou non, mais toute la région sous-anale devient proéminente et forme une bosse saillante, dont l'épaisseur varie suivant les individus de 1 à 3 ou même 4 mm (fig. 29 B, p. 86).

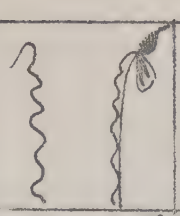
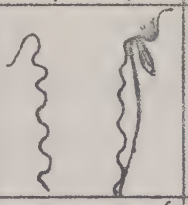
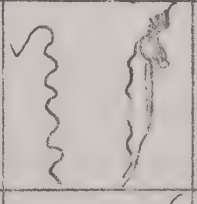
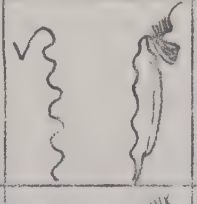
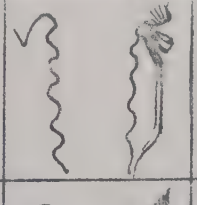
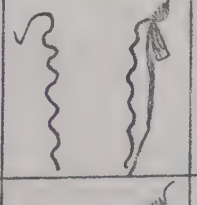
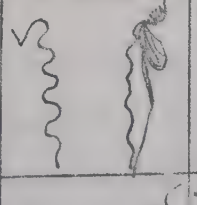
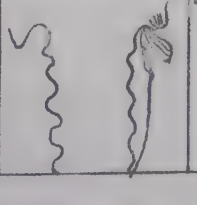
Histologiquement, le derme est profondément modifié. Le tissu conjonctif donne l'impression de se liquéfier : les grosses fibres se résolvent en éléments fins, ou très fins, semblant se fragmenter ou se disperser dans une substance fondamentale très abondante. Puis, après une période de grand désordre, ces fibres se réarrangent dans l'ensemble transversalement. En

même temps apparaissent de très nombreux noyaux, ronds, bien colorables, signalant l'augmentation des éléments fixes et mobiles de ce tissu. En somme, de tissu conjonctif fibro-élastique dense à l'état normal, il passe progressivement à l'état de conjonctif lâche. En même temps, de très nombreux capillaires issus de l'artère caudale se ramifient considérablement à l'intérieur et réalisent une forte poussée congestive.

Ces remaniements du derme, qui commencent par la couche centrale, gagnent peu à peu les zones superficielles et profondes qu'ils finissent par éroder complètement et rendre tout à fait indistinctes. Tous les intermédiaires sont possibles entre l'état normal et l'apparition du tissu conjonctif lâche.

c) Par une série d'étapes successives (fig. 29 C, p.86 30 A et B, p. 87) le liséré se différencie en un bourrelet délimitant une boutonnière ventrale, d'abord ouverte vers la région caudale. Puis, ce bourrelet devient de plus en plus important, d'abord dans la partie antérieure, puis dans la partie postérieure ; en même temps la boutonnière se complète du côté postérieur. Au stade suivant, le bourrelet, très nettement marqué, s'incurve légèrement vers le plan sagittal. D'une façon parallèle l'épiderme d'abord peu modifié, va progressivement changer d'aspect ; sa pigmentation s'accroît, il se plisse, se boursoufle parfois. Le plus souvent, le tissu conjonctif sous-jacent s'hypertrophie, mais de façon variable.

d) La formation du marsupium s'accentue. Les bourrelets latéraux de la fossette s'incurvent en croissant vers le plan sagittal, se rapprochent l'un de l'autre, en laissant d'abord une fente bien visible. Puis la suture se fait d'abord par la partie postérieure, enfin sur toute la longueur sauf au niveau d'une ouverture antérieure, réalisant ainsi un marsupium femelle, tout à fait comparable à celui des jeunes mâles impubères. En même temps, l'épiderme et le tissu conjonctif sous-jacent continuent à être le siège d'hyperplasies variables suivant les individus (fig. 30 C et D, p. 87).

		1 Aire plus ou moins pigmentée ou dépigmentée Liseré de couleur différente pas de bourrelet ; conjonctif sous-jacent peu développé.
		2 Aire visible ou pas ; conjonctif sous-jacent nettement développé.
		3 Bourrelets faisant à peine saillie ; épiderme peu ou pas modifié à part la pigmentation; conjonctif sous- jacent plus ou moins développé.
		4 Bourrelets marqués à la partie antérieure ; aire ouverte vers la partie caudale ; épiderme plus ou moins modifié en général peu .
		5 Bourrelets marqués nettement sur toute la longueur Aire ouverte vers la région caudale ; épiderme nettement modifié.
		6 Bourrelets bien marqués ; fossette entièrement entourée par eux ; épiderme assez modifié ; conjonctif sous-jacent peu développé.
		7 Bourrelets fortement marqués ; conjonctif sous-jacent développé ; épiderme nettement différent de l'épiderme caudal normal.
		8 Fermeture de la fossette ; sur toute la longueur, pas de suture.
		9 Début de la suture à la partie postérieure.
		10 Morphologie marsupiale ; suture étendue ; fossette antérieure ouverte.

-. TABLEAU 4.-

Histologiquement, le tissu conjonctif est attaqué de la même façon que celle décrite ci-dessus, mais en général beaucoup moins intensément. Seule la zone centrale est touchée, les zones superficielles et profondes restent individualisées. Cependant, l'épiderme est soulevé de façon symétrique à droite et à gauche par une prolifération de la zone superficielle conjonctive, comme l'atteste l'accumulation de noyaux visibles à cet endroit : ce conjonctif reste dense. D'autre part, la poussée congestive est moins prononcée qu'aux stades précédemment décrits.

Dans les stades ultimes de la constitution de ces marsupiums, la poussée conjonctive s'amplifie dans les bourrelets latéraux, entraînant avec elle l'épiderme apparemment de façon passive, bien qu'il ne soit pas aminci par un étirement quelconque, ce qui implique une néo-formation à son niveau. L'épiderme interne se modifie graduellement (perte des "Flammenzellen", réduction des composantes glandulaires) et il se forme des plissements très apparents macroscopiquement, dus aux poussées conjonctives sous-jacentes.

Parfois la "fluidification" et l'hypertrophie conjonctives entraînant l'épithélium avec elles se font plus rapidement que la constitution et la fermeture de la fossette, si bien qu'on se trouve en présence d'un paquet conjonctivo-épidermique, plus ou moins tourmenté, faisant saillie dans l'ouverture de la boutonnière sous-anale (fig. 35 C et D, p. 104).

On peut distinguer dans l'élaboration de ces structures 10 degrés arbitraires qui sont résumés par le tableau 4, p. 90.

Ces dispositions "anormales" chez les femelles ont déjà été vues et figurées chez les Syngnathidés par MARCUSEN (1872) qui les signale chez Syngnathus argentatus et S. tenuirostris de la mer Noire, par DUNCKER (1908) chez S. abaster et S. agassizi et surtout par RAUTHER (1925) chez Hippocampus guttulatus et Hippocampus hippocampus.

En résumé, les formations de type mâle qui apparaissent occasionnellement chez les femelles semblent répondre à deux types d'actions simultanées :

1°) D'une part, un processus morphogénétique induisant la formation de bourrelets latéraux entourant une dépression centrale et qui ensuite, par leur soudure sur la ligne sagittale, réaliseront une cavité ne communiquant avec l'extérieur que par un orifice antérieur.

2°) D'autre part, un processus de prolifération et de transformation du coussin conjonctif central de la région sous anale qui, normalement dense, mince et peu irrigué, deviendra lâche, épais et richement vascularisé.

Ces processus sont indentiques à ceux observés chez les jeunes mâles dans les premiers stades de formation des structures marsupiales où ils sont toujours harmonieusement synchronisés. En revanche, chez les femelles, ils semblent pouvoir exister séparément l'un de l'autre dans certains cas, dans d'autres être simultanés, bien coordonnés, ou non. Dans ce cas, c'est toujours le processus hypertrophique du conjonctif qui prend le pas sur le processus morphogénétique.

3°) Variations saisonnières du pourcentage de femelles présentant une anomalie sous anale. -

Des numérations portant sur des populations de femelles récoltées chaque mois donnent les chiffres suivants :

	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
nbre total de ♀ examinées	26	24	47	42	51	108	91	104	98	40	36	21
nbre de ♀ normales	16	15	26	28	27	62	24	28	38	11	19	14
nbre de ♀ anormales	10	9	21	14	24	46	67	76	60	29	17	7
nbre de ♀ anormales (st.1-4)	5	6	19	11	22	40	49	63	44	18	13	5
nbre de ♀ anormales (st.1-5)	5	3	2	3	2	6	18	13	16	11	4	2
% ♀ anormales / ♀ totales	38	37	44	33	47	43	73	73	61	72	47	33
% ♀ anormales (st. 1 - 4)/♀ totales	19	25	40	26	43	37	54	60	45	45	36	24
% ♀ anormales (st. 5 - 10)/♀ totales	19	12	4	7	4	6	19	13	16	27	11	9

-. TABLEAU 5.-

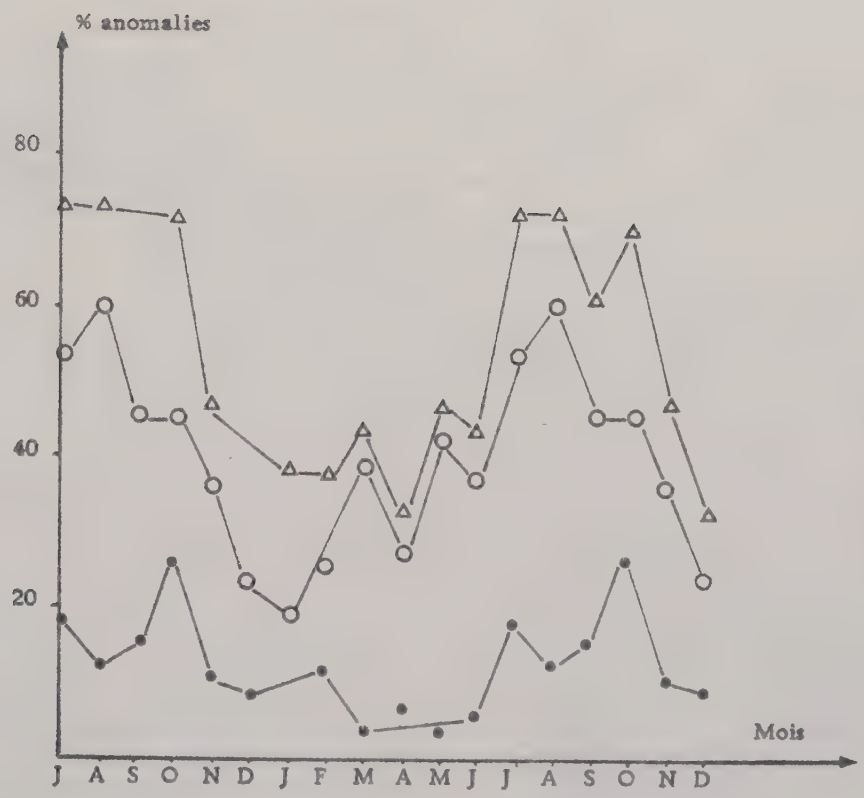


Fig. 31 : Variations saisonnières du pourcentage de femelles présentent une anomalie sous-anale

△degrés 1 à 10 ○ degrés 1 à 4 • degrés 5 à 10

follicules atrétiques. Donc les phénomènes d'atrésie et d'apparition des marsupiums sont sans doute liés, mais pas d'une façon directe, puisqu'ils peuvent exister séparément.

5°) Action de quelques hormones sur la région sous-anale des Hippocampes femelles. -

J'ai donc essayé de préciser l'apparition de ces structures par un certain nombre de traitements hormonaux. Ces expériences ont été conduites à la fin de l'été et au début de l'automne en utilisant toujours des femelles dont la région sous-anale ne présentait aucun rudiment marsupial.

a) Action de la testostérone. - (Fig. 32, p. 96). -

14 femelles adultes reçoivent tous les 3 ou 4 jours 625 γ de propionate de testostérone par voie intrapéritonéale. L'expérience dure 1 mois. Les animaux reçoivent au total 7 injections.

Résultats. -

Ils sont résumés dans le tableau 6.

Nom	Degré de la réponse	Pseudo - marsupium		
		longueur	largeur	épaisseur
M 29	7	7,3	2,2	5,1
M 84	7	7,5	2,2	5,3
M 51	3			
P 142	4			
P 145	6			
V 23	7	8,2	2,7	6,2
V 24	8	10,7	3,3	8,1
V 25	8	9,9	3,6	10,4
V 26	3			
F 2	9	11,8	3,5	10,3
F 3	9	9,6	2,7	10,3
F 6	10	6,9	2,2	7,0
F 8	8	10,4	3,2	9,6
F 26	8	11,5	3,5	12,2

-. TABLEAU 6.-

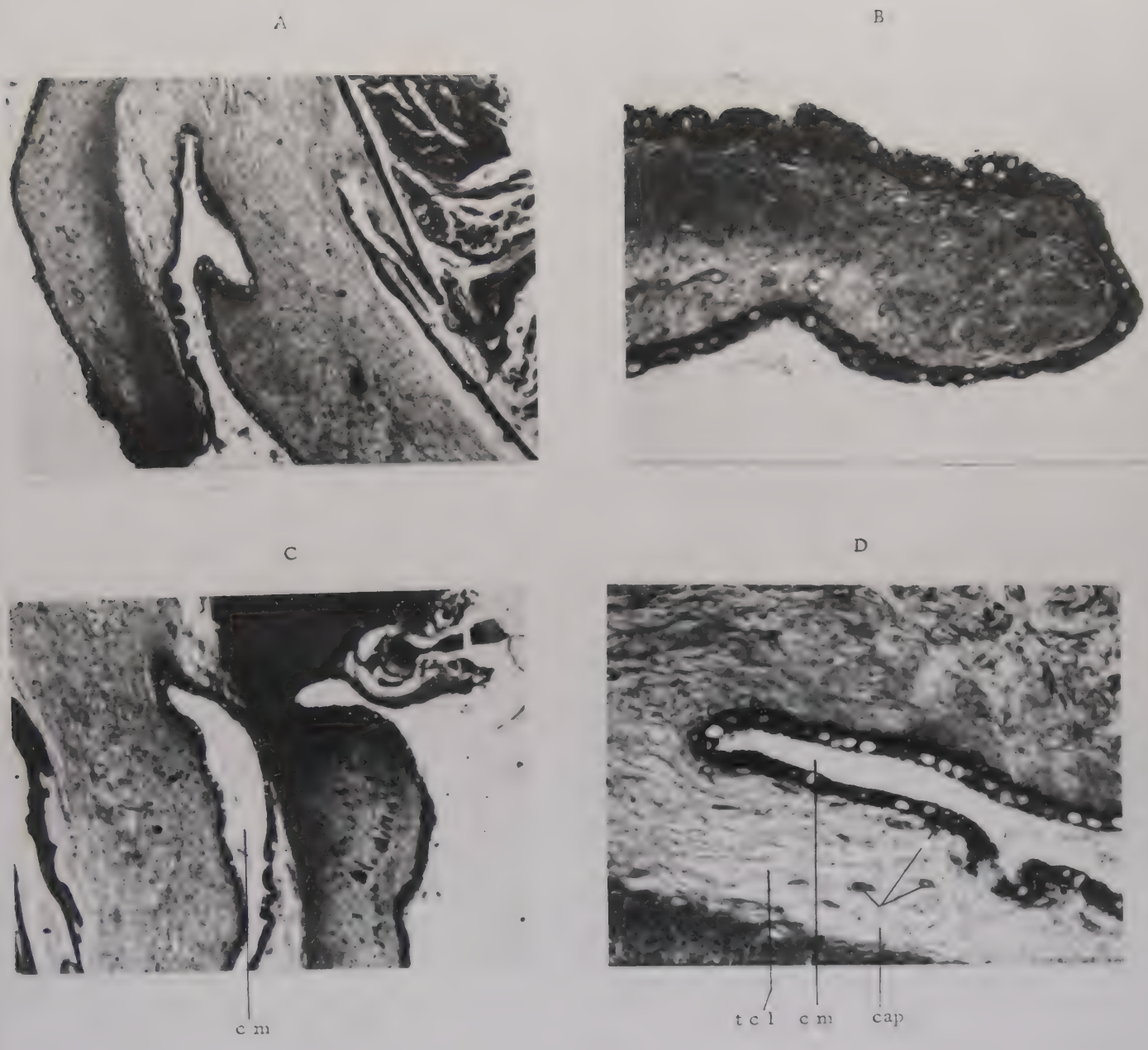


Fig. 32 : ACTION DE LA TESTOSTERONE SUR LA REGION SOUS-ANALE FEMELLE

A et B : degré 7

A : Disposition générale (x 45)
B : Détail d'un bourrelet (x 130)

C et D : degré 10

C : Disposition générale (x 45)
D : Détail (x 130)

(Remarquer l'accumulation des noyaux conjonctifs à l'extrémité des bourrelets)

cap : capillaires ; c m : cavité marsupiale ; t c l : tissu conjonctif lâche.

Les injections de testostérone déterminent chez la femelle l'apparition dans la région sous-anale, de structures du type marsupial, plus ou moins rudimentaires (fig. 32, p. 96). Les phénomènes se déroulent ainsi : 3 ou 4 jours après le début de l'expérience il apparaît dans la région intéressée une boursouflure importante, tout d'abord très fluente sous le doigt, molle, se déformant suivant l'inclinaison de l'animal ; puis il se différencie en son centre, une zone plus claire, plus ou moins transparente, entourée d'un liséré sombre, plus saillant. Peu de temps après, le liséré est devenu un bourrelet faisant saillie de part et d'autre de la région centrale toujours bombée en forme de dôme. A ce moment là, la prolifération atteint à peu près 10 mm de long sur autant d'épaisseur. Ensuite, à mesure que l'expérience se poursuit la zone centrale, fluide, faisant fortement saillie hors des lèvres en formation, se réduit, s'aplatit, devient plus dense, tandis que des lèvres latérales prendront de l'importance et tendront à se rapprocher. A la fin de l'expérience, on obtient suivant le cas des structures identiques à celles déjà décrites à propos des femelles anormales (d° 7 à 10).

La testostérone induit donc :

1°) Une forte prolifération du conjonctif dermique sous-anal, alliée à une intense fluidification.

2°) Une morphogénèse du type mâle avec apparition, croissance et convergence de bourrelets, et dans les meilleurs cas, soudure sur la ligne sagittale.

Elle peut donc agir sur cette zone et y induire des structures de type mâle, rudimentaires il est vrai. Cette action s'accompagne d'une action fortement inhibitrice sur l'ovaire dont les ovules sont atrésiés en masse, les ovogonies invisibles,les ovocytes réduits en nombre et en volume, et plus ou moins altérés, ce qui est tout à fait conforme à ce qui a été vu de très nombreuses fois chez les Téléostéens (cf. DODD, 1960).

b) Action de l'œstradiol (fig. 33, p. 98). -

20 femelles adultes reçoivent chacune en un mois 7 injections de 125 γ de benzoate d'œstradiol par voie intrapéritonéale, espacées de 3 jours.

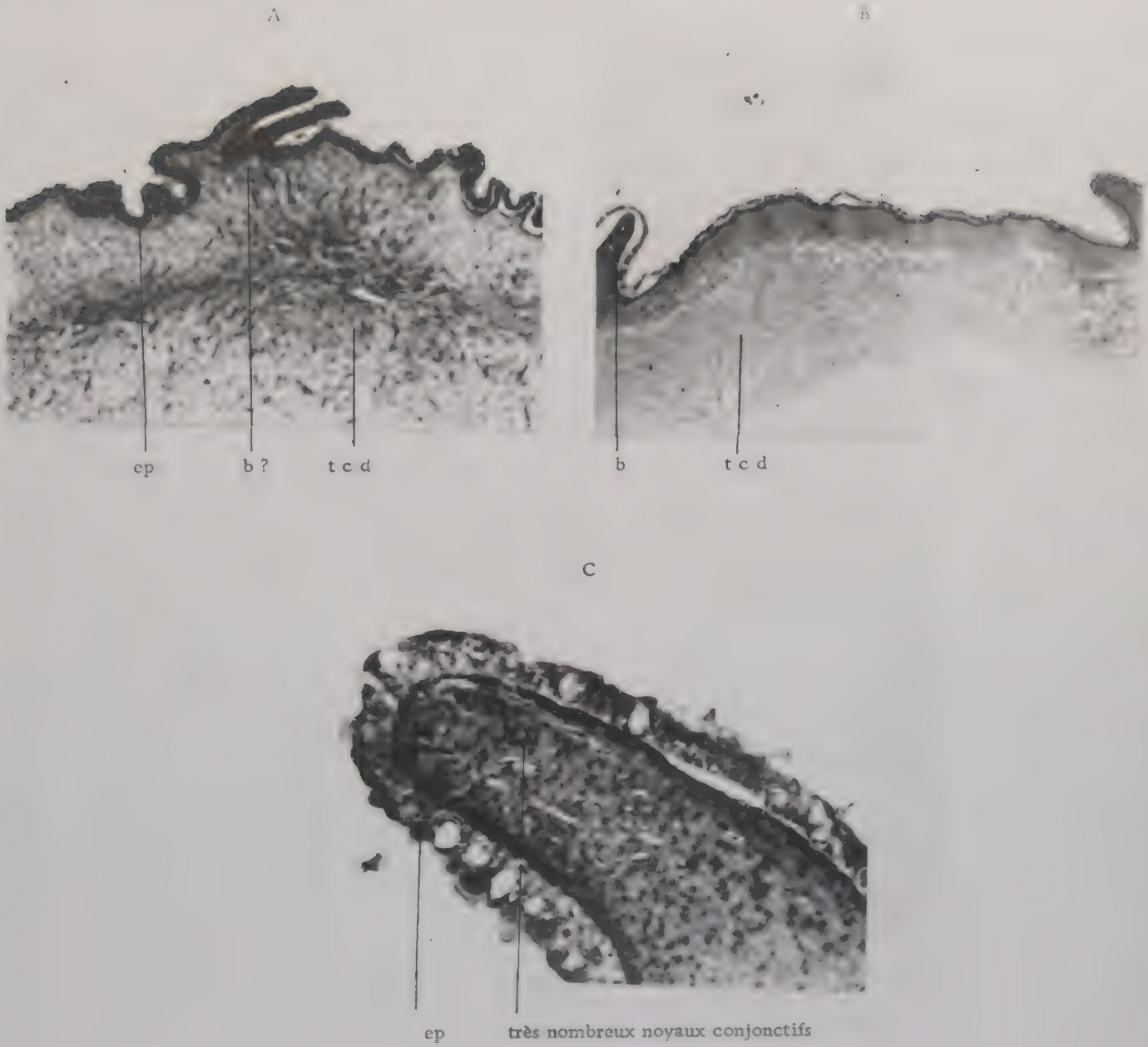


Fig. 33 : ACTION DE L'ŒSTRADIOL SUR LA REGION SOUS-ANALE FEMELLE.

A : Degré 4 (x 45)

B et C : Degré 5 :
B : Disposition générale (x 45)
C : Détail (x 330)

b : bourrelet conjonctif ; ep : épiderme ; t c d : tissu conjonctif dermique

Résultats.

Ils sont résumés dans le tableau 7.

Nom	Degré de la réponse	Pseudo - marsupium		
		longueur (mm)	largeur (mm)	épaisseur (mm)
M 3	3			
M 18	10	10	3	9,5
M 25	2			
M 36	4			
M 76	9	9,5	2,5	3,5
F 10	2			
F 11	3			
F 13	2			
P 146	4			
R 41	3			
R 45	2			
R 47	2			
V 15	0			
V 16	3			
V 17	4			
V 18	0			
V 19	9	8,5	2,7	4,2
V 20	4			
V 21	5			
V 22	5			

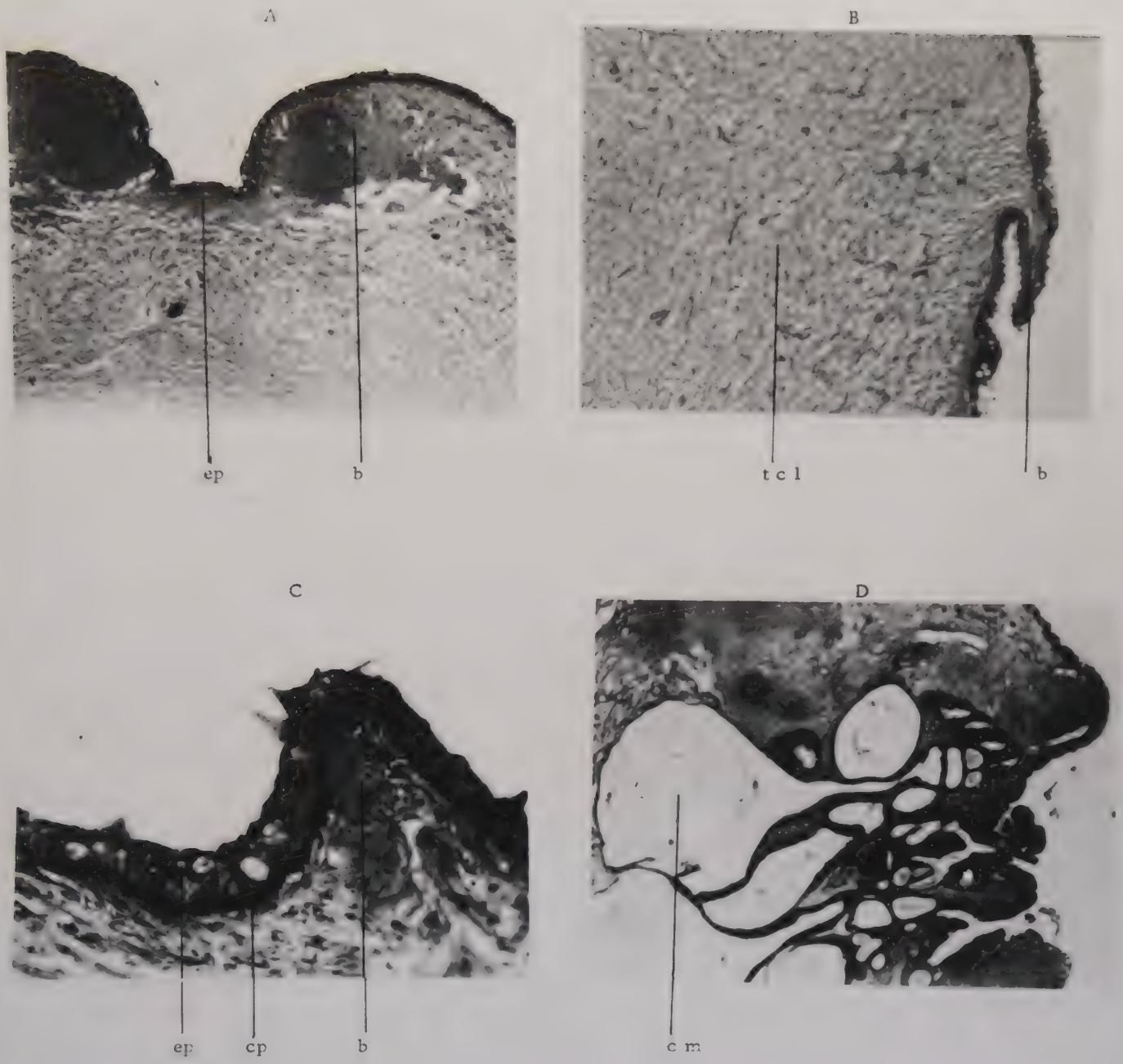
-. TABLEAU 7.-

Il faut attendre une dizaine de jours avant que les femelles répondent aux injections, mais passé ce délai, il apparaît des proliférations sous-anales identiques à celles induites par la testostérone et, dans les cas les meilleurs, aussi importantes. Elles passent par des phases semblables et au bout de 3 semaines s'organisent en marsupium rudimentaire.

Donc l'œstradiol peut induire chez les femelles des structures de type mâle (effet "paradoxal" de l'hormone femelle). En revanche, l'action de l'œstrogène sur l'ovaire est fortement inhibitrice sur les ovocytes comme l'ont déjà signalé de nombreuses fois les auteurs (voir DODD, 1960).

c) Action de la progestérone. -

10 femelles reçoivent 125 γ sous forme de 7 injections espacées régulièrement sur 3 semaines.



-. Fig. 34 .-

A : Action de la progestérone sur la région sous-anale femelle (x 45)
B - C - D : Action de la pregnéninolone sur la région sous-anale femelle :
B : degré 4 (x 45)
C : degré 6 (x 130)
D : degré 10 (x 45)

b : bourrelet conjonctif ; c m : cavité marsupiale ; c p : couche pigmentaire ; ep : épiderme ; t c l : tissu conjonctif lâche.

Résultats. -

Ils sont rassemblés dans le tableau 8.

Nom	Degré de la réponse	Pseudo - marsupium		
		Longueur (mm)	Largeur (mm)	épaisseur (mm)
M 45	0			
M 49	0			
M 50	3			
M 79	0			
M 80	5	5,2	2,1	2,3
D 24	0			
D 26	2			
D 28	2			
P 28	5	6,2	3,3	3,6
F 25	4			

-. TABLEAU 8 .-

Dans les conditions expérimentales utilisées, la progestérone a peu d'effets sur la région sous-anale, mais cependant au bout d'un temps assez long (2 à 3 semaines) elle induit parfois des rudiments marsupiaux faibles (fig. 34 A, p.100), allant dans le cas le meilleur jusqu'au d°5.

d) Action de la pregnéninolone (fig. 34 B, C et D,p. 100). -

8 femelles sont soumises pendant 1 mois à l'action de la pregnéninolone dissoute dans l'eau de l'aquarium à raison de 67mg/l renouvelée tous les 4 jours.

Résultats. -

Ils sont résumés dans le tableau 9.

Nom	Degré de la réponse	Pseudo - marsupium		
		Longueur (mm)	Largeur (mm)	Epaisseur (mm)
M 36	7	8,2	3,1	9,8
M 39	4			
M 47	4			
M 78	6			
M 115	2			
M 118	10	6,9	2,2	14,3
P 70	9	10,2	4,1	13,0
P 72	10	10,4	3,3	12,5

-. TABLEAU 9 .-

D'une manière générale, la pregnéninolone employée dans ces conditions détermine l'apparition de proliférations variables le plus souvent fortes, allant jusqu'à la morphologie marsupiale complète (d° 10) ; en même temps, l'ovaire est fortement inhibé. L'action de la pregnéninolone est donc masculinisante, ce qui est conforme aux résultats obtenus sur d'autres matériels (voir VIVIEN, 1950, 1952 b et VIVIEN et MOHSEN, 1952).

e) Action des hormones gonadotropes. -

Pendant 1 mois, 10 femelles ont reçu 9 injections espacées tous les 3 ou 4 jours d'hormones gonadotropes (1).

Résultats. -

Les réponses sont toutes du même type ; après 15 jours de traitement, les hormones induisent l'apparition chez les femelles adultes de structures marsupiales rudimentaires en suivant toujours le même processus : prolifération initiale du tissu conjonctif sous-jacent puis organisation du type mâle, apparition de bourrelets qui tendent à se refermer sur une boutonnière centrale. L'ovaire est fort peu stimulé, et même parfois l'atrésie semble plus importante que chez les témoins.

f) Conclusion. -

Ces essais expérimentaux montrent que toutes les hormones utilisées : androgènes, œstrogènes, progestagènes, ambivalentes, hypophysaires, sont capables d'induire des structures marsupiales rudimentaires chez les femelles. Sauf pour la progestérone, elles sont généralement fortes et comparables à celles que l'on trouve parfois spontanément dans la nature, en particulier après la ponte. Faut-il voir là un argument en faveur d'une action hormonale des follicules atrétiques pré-ovulaires ? Il ne semble pas. La variété même des substances injectées, qui donnent pourtant des résultats comparables, plaide en faveur d'une interprétation plus complexe de ces phénomènes d'induction. J'ai donc tenté d'aborder le problème par le biais chirurgical.

---

(1) antelobine Byla — 3 femelles dose 1125 UI
gonadormone Byla — 4 femelles dose 2,25 UI
hormone gonadotrope sérique Byla — 3 femelles dose 1125 UI

6°) Action de l'hypophysectomie (fig. 35, p.104). -

Le but de cette opération était de mettre l'ovaire au repos et de déclencher une atrésie généralisée. Les résultats sont résumés dans le tableau 10.

Nom	Jour de l'opération	Etat de l'ovaire	Durée du traitement	Degré de la réponse
Y 7	20/2	début maturation	20 j	0
Y 8	"	"	23 j	3
Y 13	"	"	19 j	1
Y 9	3/3	"	14 j	3
X 9	2/6	maturation avancée	18 j	4
Y 26	12/6	involution	12 j	3
P 56	1/7	"	12 j	5
V 67	27/6	"	24 j	4
V 68	"	"	24 j	4
V 69	"	"	24 j	0
V 78	"	"	19 j	1
P 24	30/6	maturité	10 j	5
P 57	1/7	"	12 j	6
P 61	"	"	12 j	4
V 5	18/6	"	9 j	0
V 7	"	"	9 j	0
V 63	26/6	"	13 j	7
V 64	"	"	13 j	4
V 65	"	"	13 j	0
V 66	"	"	13 j	9
V 118	8/7	"	13 j	4
V 119	"	"	24 j	9
V 121	"	"	14 j	0

-. TABLEAU 10 .-

Ces hypophysectomies ont été pratiquées en plusieurs séries à des moments différents de l'ovogenèse : début de la maturation (février-mars), maturité (juin-juillet), après l'expulsion des œufs (juillet). Les résultats sont variables et délicats à interpréter :

1°) Dans certaines conditions, l'hypophysectomie entraîne l'apparition d'un marsupium rudimentaire chez les femelles.

2°) Les réponses fortes se produisent toujours chez les animaux à

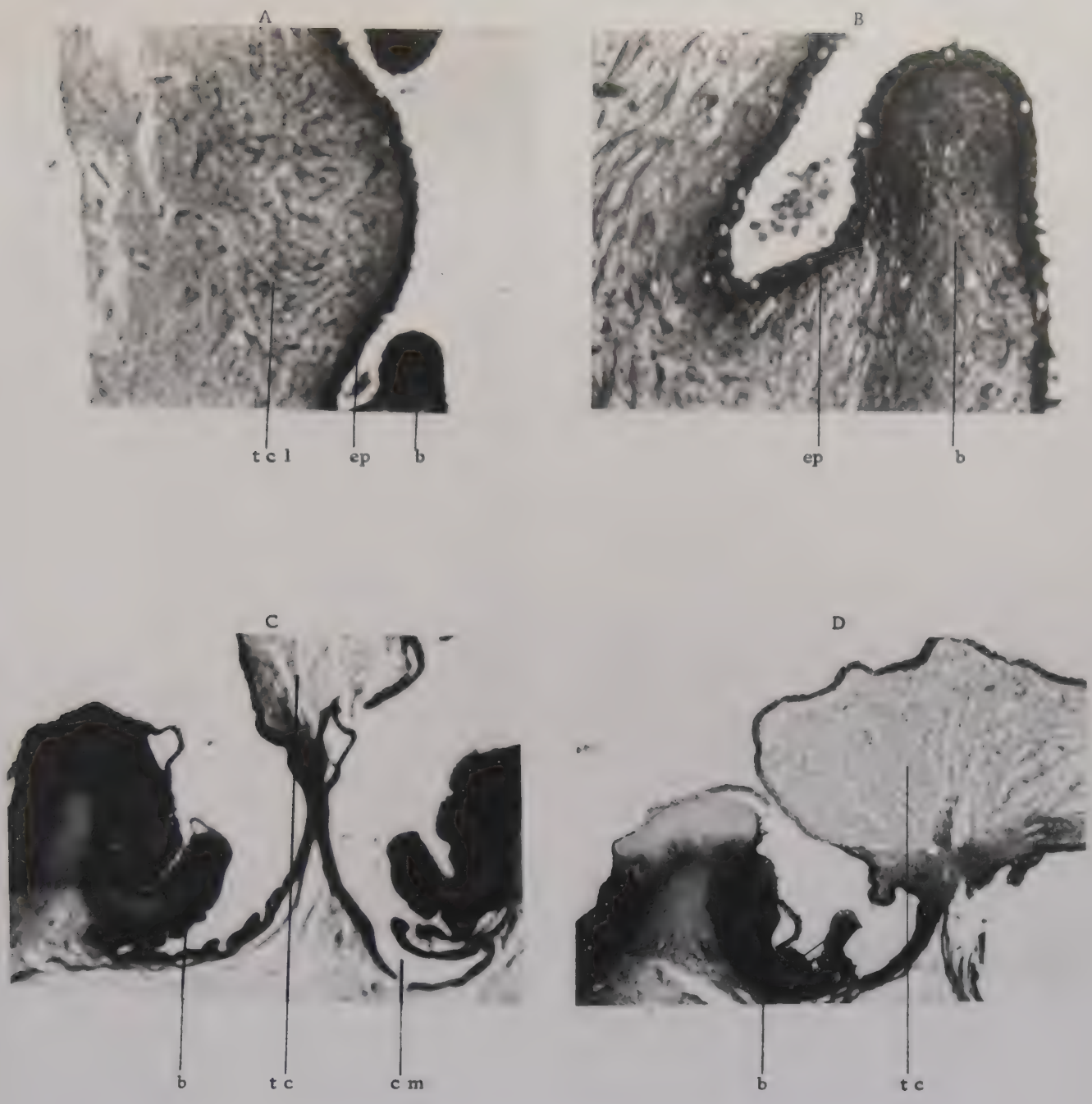


Fig. 35 : ACTION DE L'HYPOPHYSECTOMIE SUR LA REGION SOUS-ANALE FEMELLE

A et B : degré 7 :
A : disposition générale (x 45)
B : détail (x 130)

C et D : degré 9 (aberrant)(x 45)

b : bourrelet conjonctif ; c m cavité marsupiale ; ep : épiderme ; t c l : tissu conjonctif lâche ; t c : massif épithélio-conjonctif ayant proliféré anarchiquement hors de la cavité marsupiale.

maturité génitale, ou qui viennent de pondre ; les réponses faibles surtout chez des animaux en vitellogenèse ou qui ont pondu ; l'absence de réponse surtout chez les animaux qui ont pondu depuis un certain temps.

Il apparaît donc qu'un élément important de l'apparition de marsupiums dans les conditions expérimentales est l'état physiologique de l'animal au moment de la maturité génitale, et non l'atrésie induite par l'hypophysectomie. En effet, l'atrésie apparaît constamment et non le marsupium. On peut objecter que l'atrésie induite par hypophysectomie n'est pas comparable à l'atrésie normale, (voir VIVIEN, 1952 c) et dans ce cas il faudrait admettre que les réponses positives sont dues alors à autre chose que l'atrésie et notamment à la mise au repos hormonal de l'ovaire.

7°) Action de la castration (fig. 36, p. 107). -

J'ai castré totalement des femelles à la maturité génitale ou après la ponte. La castration des femelles, et particulièrement des femelles mûres est très délicate à réussir, et un certain nombre d'animaux sont morts des suites opératoires ; je n'ai pu conserver suffisamment longtemps que 5 animaux : 3 opérés à la maturité, 2 après la ponte.

Résultats. -

Nom	Jour de l'opération	Durée du traitement	Degré de la réponse
P 26	10/7	22 j	10
P 89	"	31 j	10
P 90	"	31 j	10
K 2	21/10	64 j	8
K 3	"	25 j	9

-. TABLEAU 11 .-

Dans tous les cas, mais d'une façon plus ou moins accentuée suivant les individus, il apparaît chez les opérés des rudiments marsupiaux d'autant plus complets qu'on intervient près de la maturité génitale. Donc la suppression de l'ovaire détermine l'apparition des structures du type mâle, ou encore la présence de l'ovaire inhibe la réalisation de telles structures.

On pourrait penser à un effet chalonique de l'ovaire, le marsupium appartenant à la forme neutre de l'Hippocampe. Mais cela est en contradiction avec la possibilité de déclencher l'apparition d'un marsupium avec l'œstradiol ; il est difficile d'admettre en effet une castration physiologique par injection de l'hormone homologue sans que cette hormone produise d'effets sur les effecteurs normaux.

En conclusion, si l'on écarte la possibilité de l'existence d'une forme neutre à marsupium chez l'Hippocampe, il demeure cependant que l'œstrogène libéré normalement par l'ovaire inhibe la réalisation de ces formations ; donc, lorsqu'elles apparaissent ce doit être parce que la secrétion d'œstrogène faiblit considérablement, soit parce qu'une autre hormone morphogène se manifeste, soit parce que ces deux conditions sont réalisées simultanément.

8°) Action des corticoïdes et de l'ACTH (fig. 37, p. 107). -

Les structures marsupiales étant en majeure partie conjonctives, je me suis demandé si on ne pourrait pas trouver dans l'interrénal la source éventuelle des stimulations marsupiales chez les femelles. A cet effet j'ai injecté à des femelles normales prises à diverses époques de l'été, de la cortisone, du DOCA et de l'ACTH à raison respectivement de 200 γ, 250 γ et 1,25 UI tous les 4 jours.

Résultats. -

Hormone injectée	Nom	Durée du traitement	Degré de la réponse
Cortisone	V 31	32 j	6
	V 32	32 j	10
	V 33	32 j	10
	V 34	32 j	7
DOCA	V 268	12 j	7
	V 269	12 j	7
ACTH	V 27	32 j	4
	V 28	32 j	2
	V 29	32 j	4
	V 30	32 j	3

-. TABLEAU 12 .-

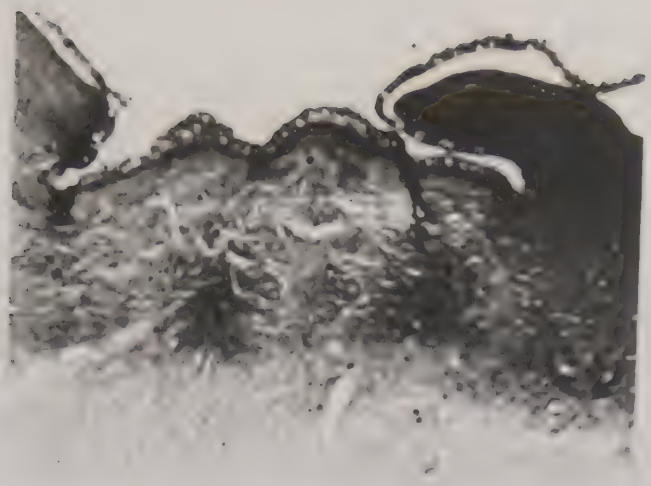


Fig. 36 : Action de la castration sur la région sous-anale femelle
Degré 9 : partie antérieure du marsupium (x 45)

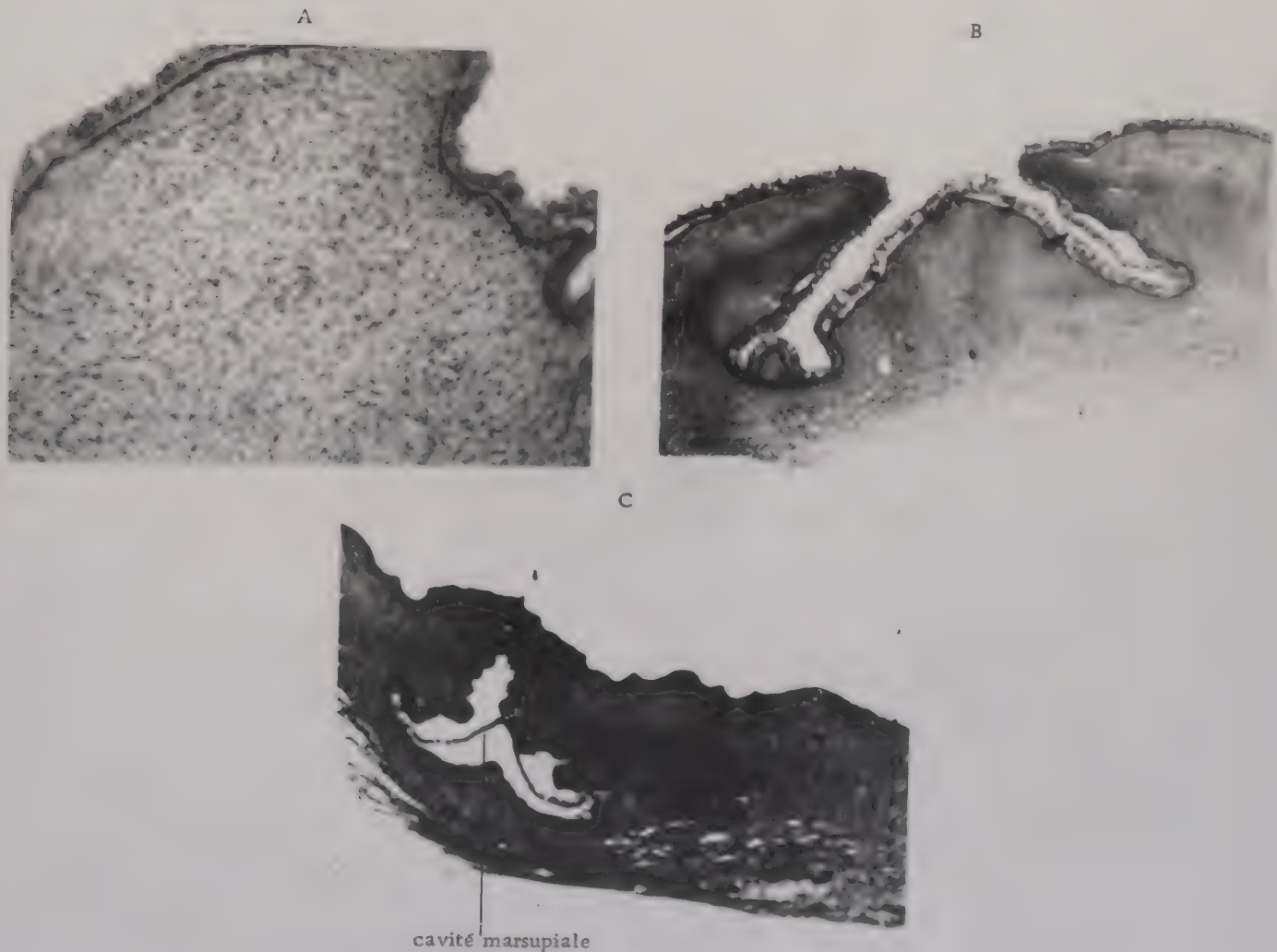


Fig. 37 : Action des corticoïdes sur la région sous-anale femelle

A : DOCA (degré 7) (x 130). Remarquer l'accumulation des noyaux conjonctifs.
B : Cortisone (degré 7) (x 45)
C : Cortisone (degré 10) (x 45)

1°) Il apparaît chez tous les animaux traités par les corticoïdes une réponse positive plus ou moins forte, parfois très forte, spécialement avec la cortisone.

2°) L'ACTH ne déclenche qu'une réaction positive très légère bien qu'indubitable.

Donc les corticoïdes de synthèse sont bien capables d'induire chez la femelle l'apparition des structures marsupiales, au même titre que les hormones sexuelles.

9°) Conclusion. -

Que peut-on conclure de l'ensemble de ces observations et de ces faits expérimentaux ?

Nous avons vu que les structures marsupiales apparaissent chez les femelles normales, sous leurs formes fortes, surtout après la ponte, au moment de l'atrésie ovarienne ; on peut les induire chez les femelles soit par injections d'hormones (n'importe lesquelles), soit par hypophysectomie, ou castration, en admettant, dans ce dernier cas, que nous n'avons pas affaire à un effet chalonique typique. D'un autre côté, nous avons montré que chez le mâle, on peut considérer le marsupium comme un caractère sexuel secondaire, tant en raison de son apparition que des réponses qu'il donne aux différents traitements expérimentaux (castration -hypophysectomie, injections d'hormones).

On peut donc admettre, pour commencer, que la région sous-anale des femelles reste compétente à l'action des androgènes, notamment de la testostérone et qu'elle réagira fortement et directement aux injections de cette hormone.

La castration d'autre part, démontre que la présence de l'œstrogène normal inhibe la réalisation de ces structures ; donc lorsqu'elles apparaissent (normalement ou expérimentalement en dehors de l'action des

androgènes) c'est que cette inhibition est affaiblie. Le fait qu'un œstrogène de synthèse soit capable d'induire des marsupiums prouve que nous ne sommes pas en présence d'un effet chalonique typique et qu'il n'existe pas de forme neutre chez l'Hippocampe. C'est donc au moment de la chute de l'œstrogène circulant qu'il apparaît en même temps (ou qu'il se démasque) une autre activité hormonale morphogène : il me paraît tentant de l'attribuer aux organes interrénaux.

En effet, on admet que la vitellogenèse est sous déterminisme œstrien chez les Vertébrés et bien que nous ne sachions pas exactement où se fait l'élaboration de l'œstrogène chez les Poissons, on peut admettre que l'activité œstrogénique augmente régulièrement au cours de la gamétogenèse et très fortement pendant la vitellogénèse. Il est logique de penser qu'à partir de la maturité ovulaire et pendant l'atrésie ovarienne qui suit la ponte, cette activité subit une chute brutale et reste pendant quelques semaines à un niveau involutif bas. Or, il a été démontré maintes fois que parallèlement à l'acquisition de la maturité sexuelle, l'activité cortico-surrénalienne augmente considérablement. La ponte ayant lieu ou non, au bout d'un certain temps, l'atrésie ovulaire s'installe ; je pense que cette atrésie, qui met en jeu d'une part une forte prolifération des thèques et d'autre part des processus complexes d'élimination des ovules atrésiés, doit être liée à une activité corticale très forte comme celle qui se manifeste chaque fois qu'un organisme déclenche des phénomènes de résorption ou d'élimination de corps internes. Après une phase d'hyper-activité due à l'atrésie,l'interrénal reprend un niveau normal d'activité.

On voit ainsi, dans ce cadre hypothétique, qu'entre la ponte et le début de l'automne coïncideraient deux faits : involution de la sécrétion œstrogénique et hypercorticisme. L'inhibition ovarienne étant levée ou tout au moins abaissée, les corticoïdes plus ou moins androgènes (1) ou actifs sur le conjonctif sous-anal seraient responsables de l'apparition du marsupium.

---

(1) On sait que les surrénales des femelles castrées sont susceptibles de fournir des corps androgènes (CHESTER JONES, 1957 ; PARKES et DEANESLEY, 1966).

Il reste à expliquer :

1°) Pourquoi il y a une forte proportion d'anomalies faibles à la maturation sexuelle,

2°) Pourquoi on trouve des anomalies fortes, assez rares il est vrai, dans les mois de reprise de l'activité ovarienne,

3°) Pourquoi les rudiments marsupiaux n'apparaissent pas chez toutes les femelles.

Le taux élevé des anomalies faibles à la maturité sexuelle peut s'expliquer dans notre hypothèse par l'hypercorticisme lié à la maturation des gamètes, libérant un taux élevé de corticoïdes qui entrent en compétition avec l'œstrogène secrété à ce moment là. Suivant le rapport existant entre ces hormones, on aura des réponses plus ou moins fortes.

Des anomalies fortes printanières représentent des structures très élaborées dans un conjonctif dense, mais elles montrent par rapport aux anomalies de même degré de l'automne une différence fondamentale. Alors que ces dernières comportent une densité nucléaire très élevée particulièrement au niveau des bourrelets marsupiaux, les premières ne montrent qu'un nombre de noyaux réduit, voire petit. Ce sont donc de vieilles structures élaborées l'automne précédent en train de régresser plus ou moins et plus ou moins vite, mais non formées à cette époque de l'année.

Les femelles ne montrant pas de différenciations marsupiales à l'automne peuvent être considérées comme retardataires (vitellogénèse et accouplement tardif) ou précoces (accouplement dès la fin du printemps) ; elles sont dans ces cas déjà dans la période du premier accroissement de leurs ovocytes où par conséquent, la pause œstrogénique a été plus courte. Remarquons que ces femelles possèdent dans leurs ovaires de nombreux follicules atrétiques sans montrer pour cela d'anomalies sous-anales.

Si l'on admet le bien-fondé de cette hypothèse, les actions hormonales sexuelles peuvent s'expliquer par une stimulation du tissu interrénal ; la progestérone et l'œstradiol sont connus pour avoir cette action et on peut

supposer que chez l'Hippocampe femelle, c'est la castration physiologique jointe à une stimulation corticale qui induit les marsupiums. Les hormones gonadotropes auraient une influence similaire en faisant involuer le massif gonadotrope, donc en induisant une pause œstrogénique permettant alors aux hormones corticales de manifester leur action. Quant à l'hypophysectomie, si elle est pratiquée à une période d'hypercorticisme et de faible action ovarienne, elle renforce le déséquilibre existant avant que l'involution corticale ne puisse s'établir et fera apparaître des marsupiums. Si elle a lieu soit à une période de forte sécrétion œstrogénique, soit de faible sécrétion surrénale, l'involution hormonale qu'elle déclenche ne perturbera pas l'équilibre ovaire-cortex, et les structures n'apparaîtront pas.

EN RESUME, notre interprétation est la suivante : chez les femelles, la région sous-anale est contrôlée par deux types d'hormones : une hormone ovarienne inhibitrice, des hormones corticales morphogènes. La "normalité" (absence de rudiments marsupiaux) est due à un équilibre tel que l'hormone ovarienne soit en fort excès. Si le taux d'hormones ovariennes par rapport aux hormones corticales diminue ou à l'inverse, si les hormones corticales augmentent fortement par rapport aux hormones ovariennes, il apparaît des structures marsupiales plus ou moins fortes suivant le degré de déséquilibre entre les deux catégories hormonales.

Notons cependant que les anomalies fortes ne pourront apparaître normalement que dans le cas d'une forte involution de l'activité gonadique et non pas dans celui de l'installation d'un hyper-corticisme sur une fonction œstrogénique normale. Ajoutons à cela que la région sous-anale des femelles est fortement et directement sensible à l'action des androgènes.

Quels arguments pouvons-nous avancer à l'appui de notre hypothèse ? Ils sont malheureusement peu nombreux, car cette question est malgré tout restée en dehors de nos préoccupations principales. Je n'ai pas étudié le cycle complet interrénalien des femelles, mais seulement quelques

interrénaux de femelles normales, ou présentant des anomalies sous-anales ou ayant subi des traitements expérimentaux. Les résultats sont résumés par le tableau 13.

Nom	Diamètre nucléaire moyen de l'interrénal			Densité nucléaire moy. de l'inter.	Nature des individus étudiés	Anomalies
C 133	4,18	±	0,061	42	♀ mai	0
C 144	4,22	±	0,039	44	♀ mai	0
C 148	4,51	±	0,057	50	♀ juin mûre	0
V 157	4,43	±	0,071	55	♀ juin mûre	0
V 154	4,67	±	0,042	59	♀ + atrésie	d° 6
X 10	4,96	±	0,053	42	♀ + atrésie	d° 8
V 19	4,88	±	0,047	59	♀ + œstrogène	d° 9
V 21	5,30	±	0,038	54	♀ + œstrogène	d° 5
V 65	4,01	±	0,065	56	♀ hypophysect.	0
V 121	3,98	±	0,028	58	♀ hypophysect.	0
V 66	4,64	±	0,074	49	♀ hypophysect.	d° 9
V 119	4,57	±	0,043	51	♀ hypophysect.	d° 10

-. TABLEAU 13 .-

On peut faire les commentaires suivants :

1°) Les femelles mûres sans marsupium ont un interrénal dont le diamètre nucléaire moyen est supérieur à celui des femelles en vitellogènèse mais inférieur à celui des femelles présentant un marsupium et un ovaire en atrésie.

2°) Les femelles traitées à l'œstradiol présentent un interrénal très fortement stimulé par rapport aux femelles en vitellogenèse.

3°) Chez les femelles hypophysectomisées présentant un rudiment marsupial, l'interrénal est nettement moins involué que chez celles n'en présentant pas.

D'autre part, chez les femelles d'automne ne présentant pas de marsupium, les poussées oogoniales et le petit accroissement des ovocytes sont beaucoup plus marqués que chez celles qui en ont, où l'ovaire est, en général, en profonde involution.

Cependant, répétons- le, si ces indications semblent plaider en faveur de notre hypothèse, elles sont beaucoup trop réduites pour entraîner la conviction. Les différences individuelles sont en effet très importantes et seules des recherches plus méthodiques, comportant obligatoirement l'étude du cycle interrénalien complet des femelles et l'étude approfondie des interrénaux des animaux hypophysectomisés ou ayant reçu des injections d'hormones permettront de préciser les mécanismes qui contrôlent l'apparition des marsupiums, et de savoir effectivement si les corticoïdes en sont responsables.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

-. Chapitre III.-

ETUDE DESCRIPTIVE DE L'INCUBATION

-:-:-:-:-:-:-:-

I. - ACCOUPLEMENT. -

L'accouplement a lieu à l'issue d'une pariade amoureuse fort longue et complexe, différente pour les deux espèces, qui a été minutieusement décrite par FIEDLER (1954). A l'issue de cette pariade, la femelle introduit les œufs, grâce à sa papille génitale turgescente, dans le marsupium du mâle en un temps relativement très court ; les œufs sont fécondés au passage par le sperme qui ruisselle du cloaque dans l'ouverture marsupiale se trouvant immédiatement sous lui.

Le nombre d'œufs ainsi déposé dans le marsupium du mâle est variable d'un individu à l'autre et d'une espèce à l'autre. Le tableau 14 donne une idée de ces nombres.

Il montre que :

1°) Ce nombre est extrêmement variable, mais presque toujours très élevé. Les auteurs n'ont pas assez insisté sur le nombre important d'embryons contenus dans un marsupium relativement petit.

2°) La charge moyenne pour H. guttulatus est de 269, le maximum rencontré de 581.

3°) Pour H. hippocampus, ces valeurs sont respectivement 509 et 865.

H. GUTTULATUS		H. GUTTULATUS		H. HIPPOCAMPUS	
Nom	Nombre de jeunes	Nom	Nombre de jeunes	Nom	Nombre de jeunes
C 33	424	C 169	141	C 43	595
C 41	274	C 159	153	C 206	865
C 75	254	C 193	155	C 192	197
C 109	114	C 161	179	C 198	474
C 106	412	C 167	141	C 60	404
C 160	332	C 176	189	C 174	302
C 171	229	C 111	121	C 179	733
C 62	300	C 23	189	C 184	510
C 56	269	C 33 b	233	C 207	354
C 175	235	C 24	168	C 177	430
C 181	408	C 36	164	C 63	536
C 182	229	C 26	255	C 139	794
C 155	248	C 27	276	C 132	432
C 168	279	C 39	170		
C 137	241	C 40	196		
				TOTAL	6 626
TOTAL :	7 617	MOYENNE :	269	MOYENNE	269

-. TABLEAU 14 .-

En étudiant les portées des animaux hypophyséoprives, nous verrons (page 158)qu'on peut trouver des animaux incubant moins de 100 embryons. Il s'agit alors soit de mâles de petite taille, soit de mâles dont l'accouplement avait été interrompu ou effectué avec de très petites femelles.

Dans la nature, les accouplements ne sont pas également fréquents pendant toute la durée de la période de maturité génitale ; on constate en effet que près de 80 % d'une population mâle pêchée au même endroit et le même jour libère au laboratoire les jeunes au même moment ou presque (dans un intervalle de 48 à 72 heures, en général). La durée du développement embryonnaire étant la même pour tous les animaux placés dans les

mêmes conditions, il en résulte que 80 % de la population mûre s'était accouplée au même moment. Il apparaît ainsi un maximum d'accouplements à la pleine lune (marées de vives eaux) de chaque mois. Il y a donc au cours de la période de maturité génitale, de juin à août, 3 périodes privilégiées (les 3 pleines lunes) en dehors desquelles il sera relativement difficile de trouver des stades précoces d'incubation.

II. - DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE L'HIPPOCAMPE

(Fig. 38 et 39, p. 117, fig. 40, pp. 119, 120, 122). -

Il existe relativement peu de données complètes sur la chronologie du développement embryonnaire des Téléostéens (HENNEGUY, 1888 ; OPPENHEIMER, 1937 ; ROOSEN-RUNGE, 1938 ; TAVOLGA et RUGH, 1947 ; HISAOKA et BATTLE, 1959 ; CHAMBOLLE, 1964) et pas sur l'Hippocampe. Certains auteurs ont décrit quelques rares stades du développement (FANZAGO, 1876 ; MAC MURRICH, 1883 ; SMITH, 1890 ; BRUNELLI, 1922 ; LEINER, 1934, 1936, 1937 ; LINTON et SOLOFF, 1964) mais sans autres précisions que stades du début, milieu et fin d'incubation.

J'ai donc été amené à constituer une table de développement de l'Hippocampe suffisamment précise pour servir de repère sûr aux interventions expérimentales. L'incubation durant 21 jours en moyenne à 23°C, j'ai distingué 21 stades espacés par des intervalles de 24 heures et définis par des caractères morphologiques externes visibles également sur du matériel mort ou fixé.

Stade 1. - Ce stade comprend les premières étapes du développement embryonnaire jusqu'à la neurula. Ce sont les plus sensibles aux variations de température et leur durée est notablement allongée aux températures inférieures à 23 ° C.

Au cours de ce stade, les œufs sont le siège de remaniements complexes dont l'interprétation sera discutée plus loin (voir page 118). Au moment de la ponte, l'œuf ovarien est expulsé avec son chorion formé d'une zona radiata accolée à la membrane vitelline. Dès l'activation, l'œuf augmente de taille, devient plus globuleux ; le blastoderme se rassemble à son pôle supérieur où il forme une petite calotte blanche reposant sur le vitellus orangé.

Pendant que se déroulent les premiers stades de la segmentation, le vitellus va subir de profonds remaniements que l'on peut résumer ainsi :

Fig. 38 : Evolution du vitellus au début du développement embryonnaire de l'Hippocampe (stade 1)

emb : embryon ; v d : sphérule vitelline dense sur laquelle se fait la gastrulation ;
v l : vitellus "liquéfié" ou liquide péri-embryonnaire.

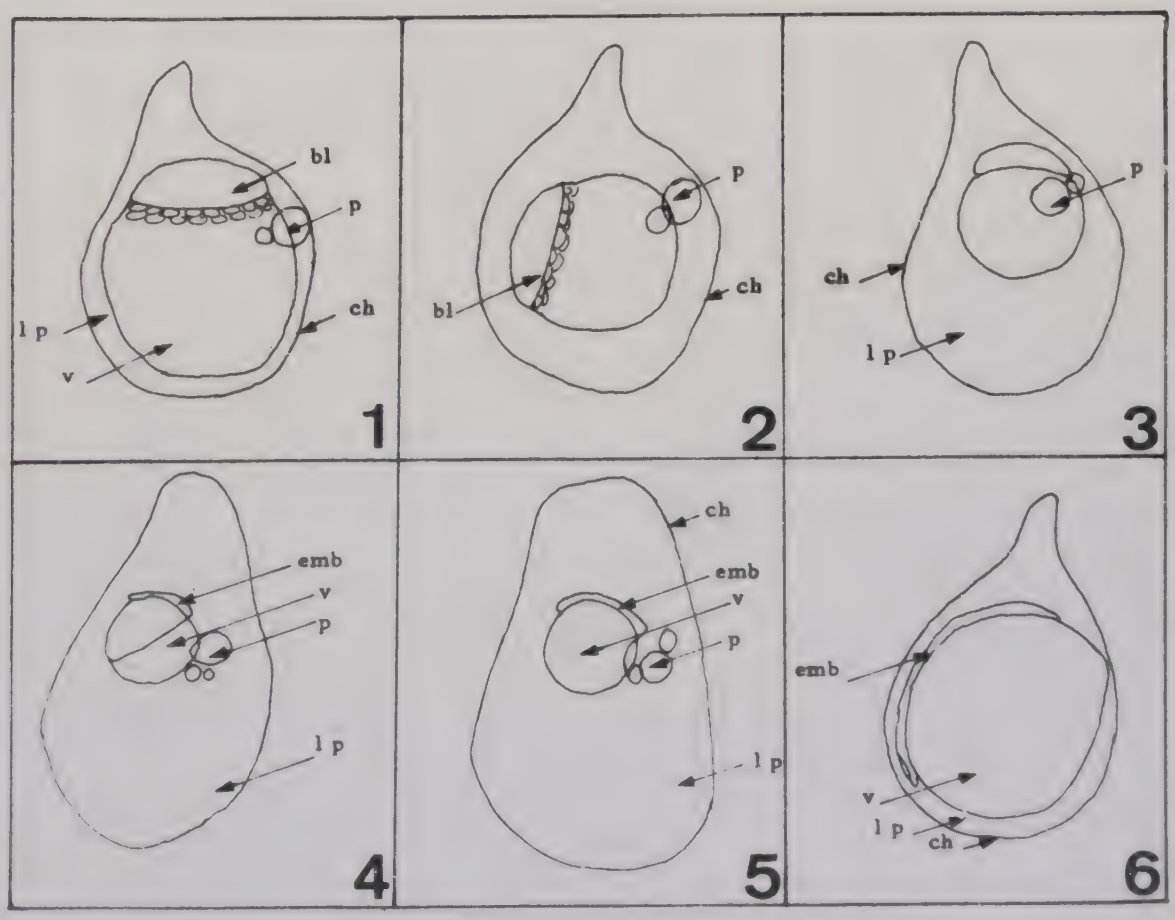


Fig. 39 : Développement embryonnaire de l'Hippocampe

1 - 3 : segmentation
4 - 6 : gastrulation.

Variations schématiques de la taille du vitellus au cours du début du développement embryonnaire.

bl : blastoderme ; ch : chorion ; emb : embryon ; l p : liquide
péri-embryonnaire ; p : goutellettes de pigment ; v : vitellus.

Le pigment caroténoïde orangé est libéré et se rassemble en gouttes ou gouttelettes immédiatement sous le blastoderme, ou à ses côtés. La viscosité du vitellus devenu incolore ou à peine jaunâtre diminue considérablement, le phénomène se déroulant de façon centripète. On trouve tous les intermédiaires entre un vitellus visqueux et condensé remplissant le chorion, et le même, réduit à une petite sphère surmontée du blastoderme, nageant dans un liquide épais, mais beaucoup plus fluide que le vitellus initial, contenu par le chorion. Je n'ai jamais, par les moyens usuels, pu mettre en évidence la présence d'une membrane quelconque sur ce vitellus en diminution.

A la fin de cette évolution l'embryon effectue sa gastrulation sur un petit noyau de vitellus initial qu'il recouvre d'épiderme extra-embryonnaire. A ce moment, les gouttes de pigment libre disparaissent.

Ensuite, tout se passe comme si l'embryon réabsorbait la plus grande partie du vitellus extra-embryonnaire. On le trouve en effet s'étalant sur un vitellus parfaitement sphérique, uniformément orangé, peu différent d'aspect de l'œuf juste fécondé et de taille équivalente. Toutefois, entre l'embryon sur sa vésicule vitelline et le chorion, il existe toujours du liquide extra-embryonnaire incolore, assez fluide, tout à fait semblable au vitellus liquéfié des stades précédents.

Il m'est cependant difficile de croire à une réabsorption du vitellus à travers l'épiderme extra-embryonnaire et je suppose qu'il s'agit d'une forte décondensation, liée sans doute à une absorption d'eau, de l'amas vitellin solide sur lequel s'est faite la gastrulation.

Le grand espace rempli de liquide qui existe entre l'embryon sur son vitellus et le chorion a depuis longtemps frappé les auteurs (Mac LEOD, HUOT, RAUTHER) qui ont signalé l'importance de cet espace "périvitellin" ; ce terme me paraît impropre, l'espace périvitellin étant celui, toujours réduit, qui apparaît entre la membrane vitelline et les membranes secondaires de l'œuf c'est pourquoi, pour ne pas préjuger de la nature exacte de cet espace, je préférerais lui appliquer le terme de péri-embryonnaire.

Stade 2. - La neurula. La plaque embryonnaire s'allonge et s'élève au-dessus de la surface vitelline, la gouttière neurale se forme, puis se ferme, le blastoderme recouvre la moitié du vitellus au moins, les 3/4 au plus.

Stade 3. - L'embryon entoure la moitié du vitellus, le blastoderme le recouvre au 7/8e ou totalement. Le tube nerveux est bien visible, montrant à sa partie antérieure les 5 vésicules primordiales bien différenciées ; les ébauches de l'œil, des capsules olfactives, des capsules otiques apparaissent ainsi que 5 à 10 somites.

Stade 4. - C'est le stade du bourgeon caudal. On compte 14 à 15 myotomes bien formés, en S, sauf dans le bourgeon caudal où ils sont invisibles. On voit bien l'oreille interne, ainsi que le cristallin. Les fentes branchiales apparaissent. L'embryon entoure les 2/3 du vitellus.

Stade 5. - La queue est nettement détachée du vitellus, souvent recourbée. La première ébauche des nageoires pectorales apparaît comme un épaississement du blastoderme de part et d'autre de l'embryon, un peu en arrière de l'oreille ; celle de la nageoire dorsale sous la forme d'une bosse de la partie postérieure et dorsale du tronc. Les bourgeons des mâchoires, de l'opercule et des branchies sont visibles. Le cardio-péricarde est bien développé ; quelques mélanophores apparaissent le long de la limite supérieure de l'œil. Aucun autre mélanophore n'est visible.

Stade 6. - Les bourgeons des nageoires pectorales commencent à se redresser et font saillie sur le blastoderme. La pigmentation de l'œil augmente (occupe son quart ou son tiers supérieur). La nageoire dorsale est bien visible, mais pas la nageoire anale, bien que la région anale fasse saillie. L'opercule se détache nettement ainsi que 4 branchies peu différenciées, immédiatement à sa suite. Les bourgeons des mâchoires sont bien visibles de profil. Les otocystes apparaissent. La face n'est pas dégagée du cardio péricarde, le cœur est rectiligne, battant au rythme de 90-100 pulsations à la minute. Le sang est rose presque incolore. Le corps est animé de mouvements généraux lents et rares ; il porte quelques mélanophores dispersés et très petits.

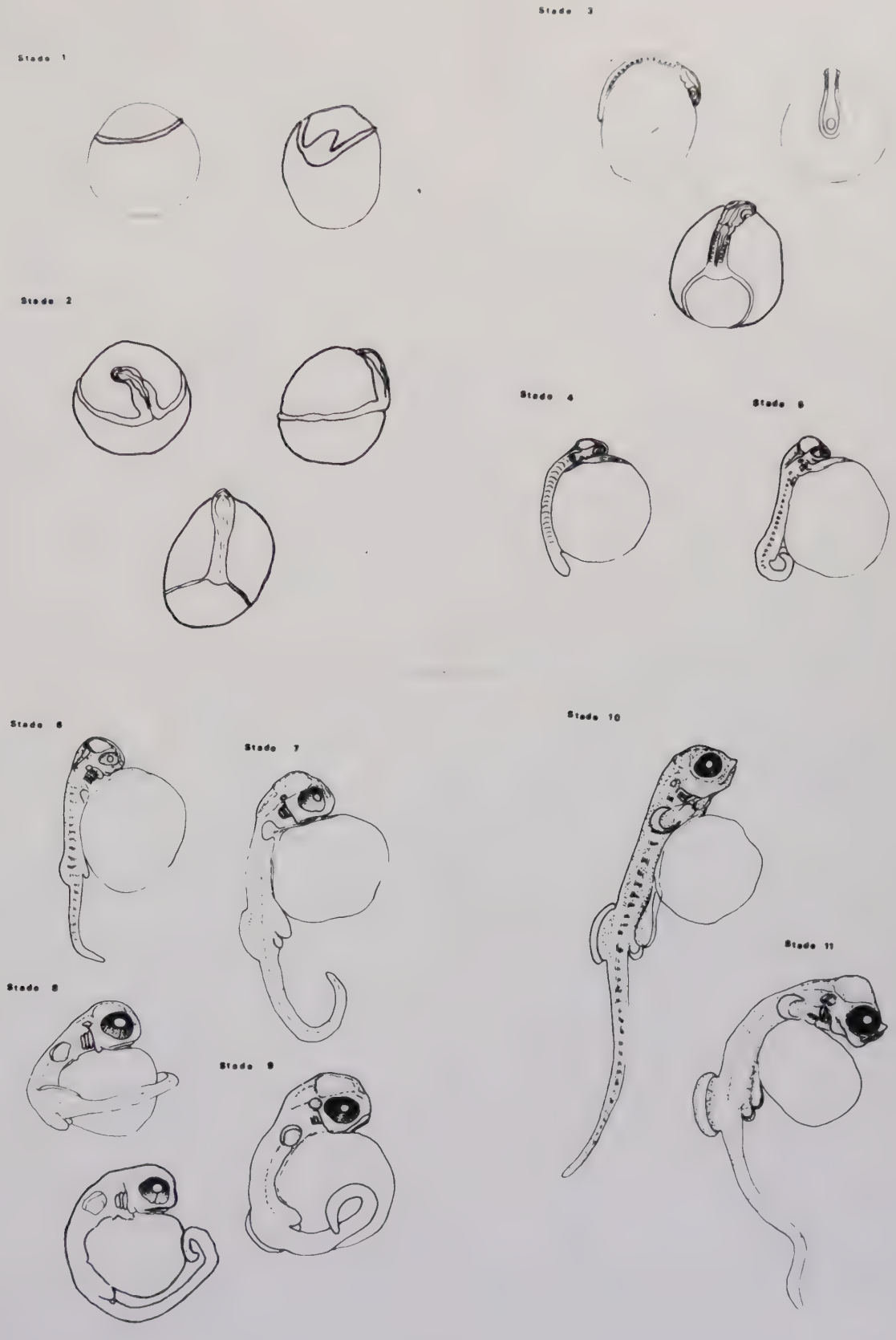


Fig. 40: DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE L'HIPPOCAMPE (x18)

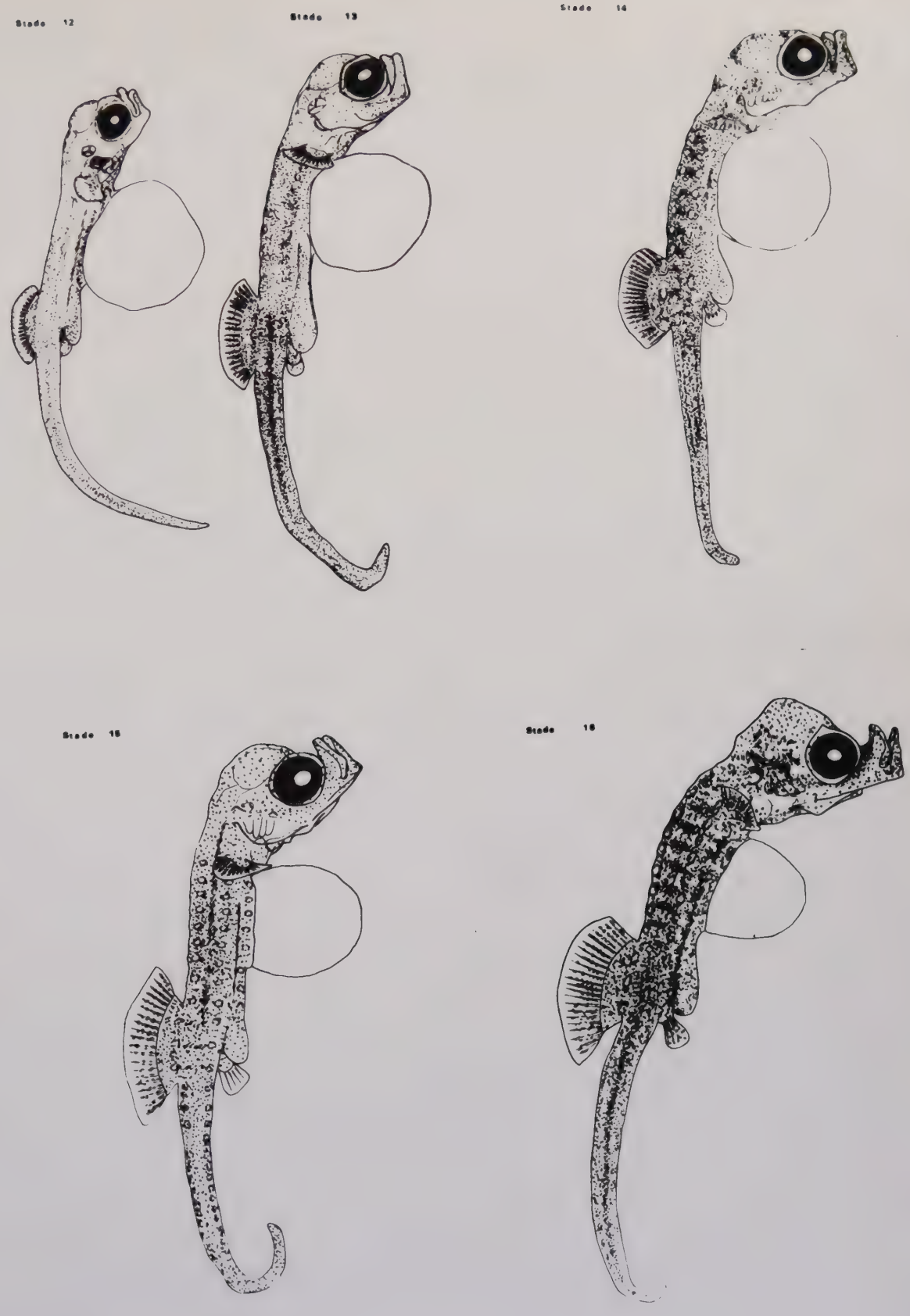


Fig 40 (Suite) : DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE L'HIPPOCAMPE (x18)

Stade 7. - Les bourgeons des nageoires pectorales sont bien développés et presque entièrement redressés. La nageoire dorsale se voit bien avec, en face, la saillie anale. On distingue la première indication d'un bourgeon de nageoire anale. Les deux premières fentes branchiales sont recouvertes par l'opercule, et trois branchies sont bien visibles. Les mâchoires apparaissent nettement sous forme de bourrelets appliqués l'un contre l'autre, dépassant à peine le bord inférieur de l'œil, et surmontés des capsules olfactives. La pigmentation de l'œil assez clairsemée, marron-clair, intéresse les 3/4 - 4/5 supérieurs du globe oculaire. Quelques mélanophores clairsemés sont répandus sur le corps.

Stade 8. - Les nageoires pectorales sont bien redressées et à peu près parallèles au plan sagittal, elles possèdent, ainsi que la nageoire dorsale une petite lame externe transparente ; la nageoire anale est bien visible. L'opercule commence à pousser et à recouvrir les branchies, dont deux seulement restent visibles. La face est très nettement décollée du cardio-péricarde, la mâchoire inférieure a grandi, la mâchoire supérieure commence à se séparer du front par un sillon bien marqué, son sommet se situant à peu près au niveau du centre de l'œil. Le plan des mâchoires est perpendiculaire au plan frontal. Sur les 4/5 de sa surface, la pigmentation de l'œil est marron foncé. Cœur : 120 pulsations. Mouvements généraux vifs.

Stade 9. - Les lames marginales des nageoires pectorales, dorsale et anale sont plus grandes et bien visibles : la pigmentation des yeux a foncé ; brun - chocolat. La bouche est ouverte. La mâchoire supérieure a peu changé par rapport au stade précédent ; elle n'atteint pas la moitié de l'œil, fait très peu saillie sur le front et reste très oblique par rapport au plan frontal. La mâchoire inférieure a grandi ; son articulation avec la mâchoire supérieure a pris de l'importance et fait très nettement saillie. Les mélanophores sont nombreux et bien visibles sur tout le corps. Deux branchies sont visibles.

Stade 10. - La mâchoire supérieure a pris de l'importance, la bouche est fermée, les deux mâchoires sont appliquées l'une contre l'autre, parfaitement distinctes et tendant à leur morphologie définitive. Elles sont redressées par rapport au plan frontal mais ne lui sont pas encore parallèles. De profil, la mâchoire supérieure dépasse la hauteur de l'œil. Le front se réduit de plus en plus en avant des yeux. La lame marginale des nageoires pectorales, dorsale et anale est bien développée. Un cercle de pigmentation très foncé apparaît autour du cristallin. Deux branchies visibles.

Stade 11. - Les mâchoires sont parallèles au plan frontal et pratiquement appliquées contre l'œil dont elles atteignent le sommet. Le front est très réduit et séparé des mâchoires par une gouttière peu marquée. Le "menton" prend de l'importance. Les yeux sont chocolat avec un cercle noir autour du cristallin. Les deux branchies visibles commencent à se plisser.

Stade 12. - Les mâchoires sont bien formées et ont atteint leur morphologie définitive. Elles sont parallèles au plan frontal, dépassant légèrement les yeux en hauteur. Elles commencent à se séparer du front dans leur tiers supérieur. Le front réduit passe en avant des yeux, qui sont presque entièrement noirs. Le vitellus est bien inséré au niveau des pectorales. Les rayons apparaissent sur la nageoire dorsale et seulement sur la moitié basilaire de la lame. Rien n'est visible sur les pectorales et l'anale. Deux branchies visibles, deux sous l'opercule, nettement plissées. Pas de mouvement des nageoires.

Stade 13. - Ce stade est remarquable surtout pour la croissance très marquée de l'embryon. Les lames des nageoires sont bien développées. Les rayons des nageoires pectorales et dorsale sont bien visibles, mais n'atteignent pas le sommet de la lame (les 3/4) ; pas de rayons sur la nageoire anale. Les mâchoires sont épaisses, rabattues en arrière, elles forment un angle aigu avec le plan frontal et touchent l'œil. Le front n'est pas visible de profil, l'œil faisant saillie en avant de lui. La mâchoire supérieure est séparée du front jusqu'au niveau du centre du cristallin. L'épaisseur des mâchoires (ou longueur du "museau") est égale au rayon de l'œil. Une branchie est juste

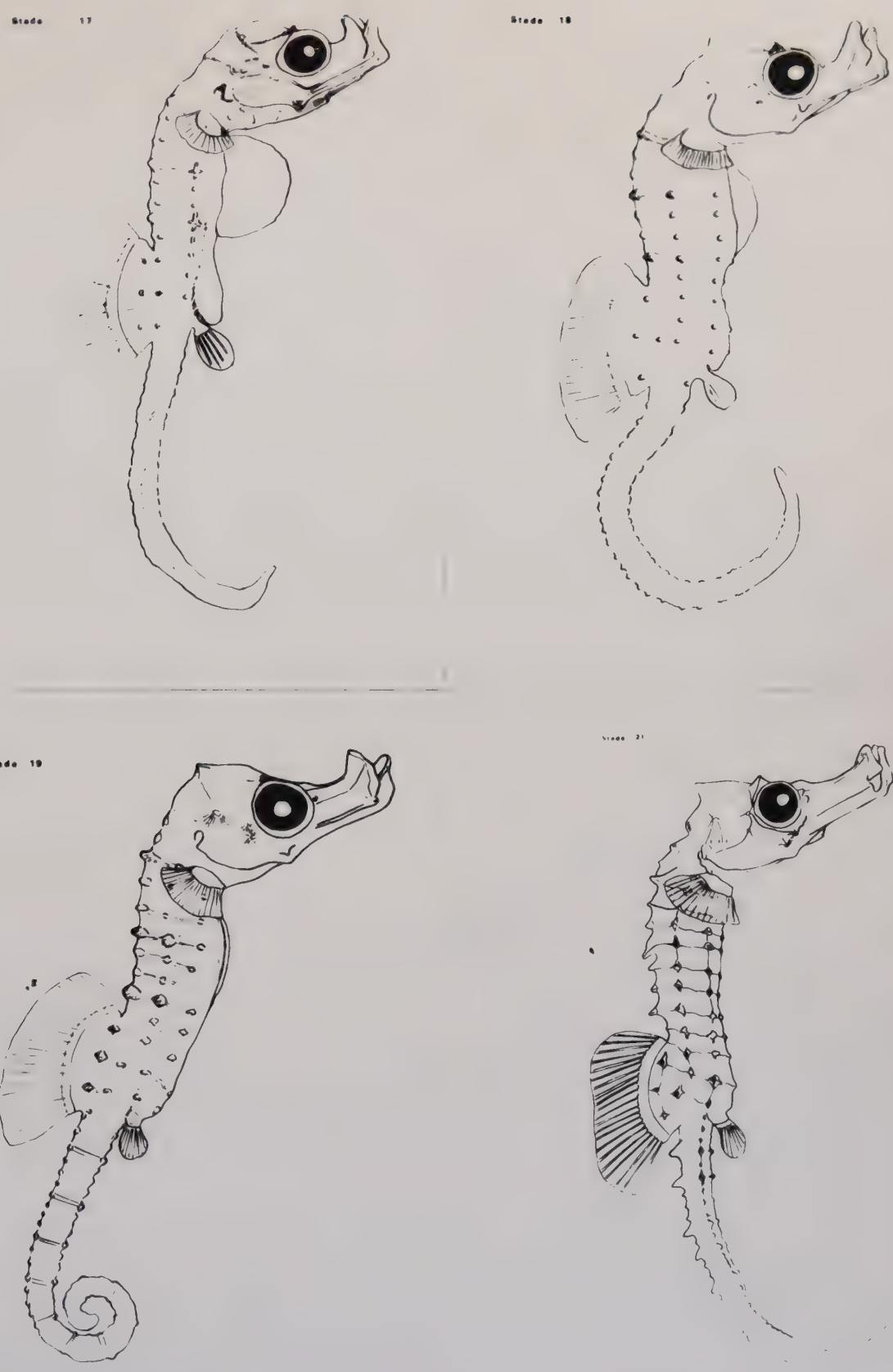


Fig 40 (Suite) : DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE L'HIPPOCAMPE (X18)

visible au bord de l'opercule. Les branchies sont fortement plissées, mais non découpées en houppes. Apparition des saillies du squelette dermique dorsal donnant une ornementation visible extérieurement. Cœur à 150 pulsations/ minute, sang rosé ; quelques rares mouvements des pectorales, rapides, mais courts et espacés et de peu d'amplitude. Les otolithes sont très apparents ; quelques mouvements oculaires ; la circulation vitelline est très visible.

Stade 14.- Les rayons des nageoires pectorales, dorsale et anale sont tous entiers, bien développés et très apparents. Le front n'est plus visible de profil, les mâchoires sont parallèles au plan frontal, appliquées contre le front ; le "museau" est plus important qu'au stade précédent (longueur comprise entre le rayon et le diamètre de l'œil). Les branchies sont entièrement recouvertes par l'opercule qui commence à se souder ventralement, mais laisse une fente en arrière.

Stade 15.- Identique d'allure générale au précédent, mais l'animal est plus grand, les saillies des plaques dermiques et du crâne sont bien visibles. Le front apparaît entre l'œil et les mâchoires. Le "museau" s'allonge, il apparaît un espace étroit entre l'œil et la mâchoire supérieure. L'orifice branchial s'ouvre dorsalement au niveau des pectorales.

Stade 16.- L'animal grandit, le museau s'allonge. La longueur orbite-menton est comprise entre le diamètre de l'œil et 1 fois 1/2 ce diamètre, 3 boucliers dermiques dorsaux prennent de l'importance. Seulement les 3/4 ou les 2/3 du vitellus font saillie à l'extérieur. Les mouvements généraux du corps sont très vifs : l'embryon se contorsionne violemment, les pectorales battent, mais ni la dorsale, ni l'anale. Le cœur bat à 110-120 pulsations/minute (sang rouge).

Stade 17.- L'ornementation des plaques dermiques est entièrement visible. Le vitellus externe est réduit à 1/2 ou 1/3 de sphère.

Stade 18.- Identique au précédent sauf que la saillie vitelline est réduite à un croissant ou une hernie allant du niveau de la nageoire dorsale au niveau de la nageoire pectorale.

Stade 19.- Le vitellus ne fait pas saillie à l'extérieur, mais une boutonnière reste ouverte du niveau des pectorales au niveau du début de la nageoire dorsale.

Stade 20.- La boutonnière est presque oblitérée, réduite à une fente par où le vitellus est visible par transparence et forme une tache jaune bien oblitérée, mais la région médio-ventrale reste dépigmentée et sans chromatophore.

Stade 21.- Naissance.

III.- NIDATION DES OEUFS, EVOLUTION DU MARSUPIUM AU COURS DE L'INCUBATION.-

De nombreux auteurs, et depuis longtemps, se sont intéressés à la structure du marsupium des Syngnathidés pendant l'incubation et à ses relations avec les phénomènes incubatoires. ERKSTRÖM (1831), RETZIUS (1835) et SCHÄFF (1886) pensent que les œufs sont fixés au marsupium par

une matière albumineuse agglutinante. C'est HUOT (1902) qui le premier signale chez Syngnathus les modifications du revêtement interne marsupial au moment de l'incubation. Pour lui les œufs s'enfoncent entre les plis du marsupium mûr, ce qui assure leur adhérence, puis l'épithélium prolifère entre les espaces libres interovulaires en même temps que se différencient un grand nombre de capillaires sous-épithéliaux qui assurent les échanges gazeux entre le père et l'embryon.

COHN (1904), chez Siphonostoma typhle constate entre l'épithélium marsupial et les membranes de l'œuf la présence de petits filaments ou de petites bosses qui ressemblent à des pseudopodes pointus. Il les croît enfoncés dans la zona radiata et suppose qu'ainsi sont assurés d'une part la fixation de l'œuf, d'autre part un transport de matières nutritives dans le liquide périvitellin. En outre, des dépressions tubulaires épithéliales auraient un rôle secréteur. PETERSEN (1907) ne voit pas la nécessité d'une fixation particulière des œufs dans les marsupiums clos. Il considère comme des artefacts les plis décrits par HUOT, et les filaments signalés par COHN. Les glandes tubulaires de COHN sont, pour lui, des indentations accidentelles.

KOLSTER (1907) retrouve parfois les prolongements épithéliaux de COHN, mais ne les considère pas comme des glandes.

RAUTHER (1925) malgré de minutieuses descriptions anatomiques n'apporte pas d'éléments très nouveaux ; il retrouve les filaments cytoplasmiques de COHN et de KOLSTER qu'il interprète comme des coupes transversales de bandes ou rubans en relief sur la surface apicale des cellules épithéliales. Il distingue nettement ces filaments des étirements apicaux de la cellule. Il reprend longuement, en les complétant, les observations de HUOT sur Syngnathus : il décrit la prolifération de l'épithélium entre les œufs, où il se présente sous deux aspects, soit très étiré et appliqué sur le chorion, soit normal et alors plus ou moins secrétoire, et il signale l'abondance des capillaires. Toutefois, il étend sa description aux structures pré et post-incubatoires, et généralise ces observations aux Hippocampes.

LINTON et SOLOFF (1964) ont effectué quelques investigations histochimiques sur les structures internes du marsupium au cours de l'incubation, mais leurs descriptions n'apportent aucun élément nouveau sur leur évolution.

Ainsi, si l'on possède, surtout grâce à RAUTHER, de bonnes descriptions des structures marsupiales, et des relations qui s'élaborent entre l'œuf et les alvéoles de nidation, elles s'appliquent presque toujours à des Syngnathus. En outre, elles ne précisent pas à quel jour de l'incubation elles se rapportent, et n'envisagent pas d'éventuelles modifications dans le temps. Je décrirai donc d'abord de façon plus précise les modifications de ces structures au cours du phénomène incubatoire.

1°) Nidation des œufs (fig. 41 et 42, p.126). -

Les œufs tombent dans le marsupium préparé à les recevoir (voir page 57). L'ouverture marsupiale dilatée et béante au moment de l'accouplement se ferme. Le marsupium devient rapidement turgescent ce qui, en raison de la valvule de l'orifice marsupial, assure une étanchéité d'autant meilleure que la pression interne est plus forte ; elle est provoquée surtout par l'augmentation sensible du volume des ovules fécondés.

Il est vraisemblable que par réaction des parois marsupiales les œufs fécondés soient dès l'origine étroitement appliqués sur le conjonctif dans lequel ils s'enfoncent légèrement. Très vite alors épithélium et conjonctif prolifèrent autour des œufs, les entourant chacun d'un alvéole qui les englobe sur les 7/8e de leur surface environ.

Leur arrangement, loin d'être anarchique, se fait sur une couche unique qui tapisse entièrement et régulièrement la cavité marsupiale. A titre d'exemple, le marsupium d'un individu normal moyen (L = 36 mm) contenait 280 œufs disposés sur 11 rangées de 8 dans le bourrelet dorsal, 12 rangées de 16 sur les parois latérales.

De cette façon, tous les alvéoles s'ouvrent dans la lumière centrale, même si cette lumière paraît virtuelle ; en outre, par l'ouverture

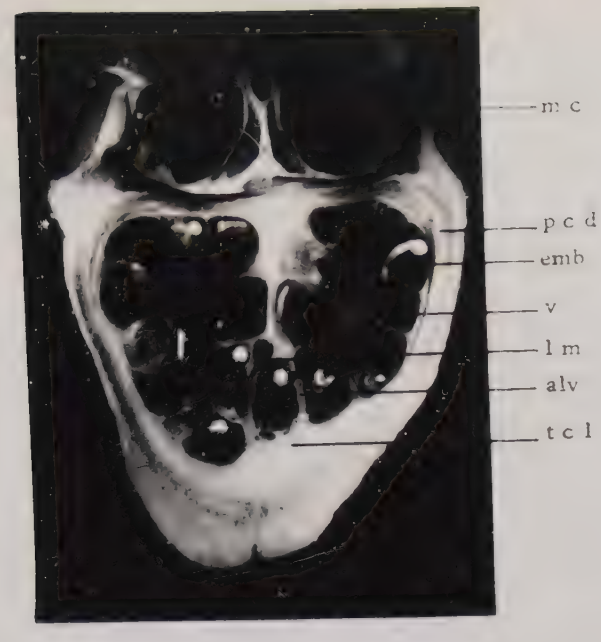


Fig. 41 : Coupe transversale d'un marsupium de mâle incubant (x 5,5)

alv : alvéole ; emb : embryon ; l m : liquide marsupial ; m c : muscles caudaux ; p c d : paroi conjonctive dense ; t c l : tissu conjonctif lâche ; v : vitellus.

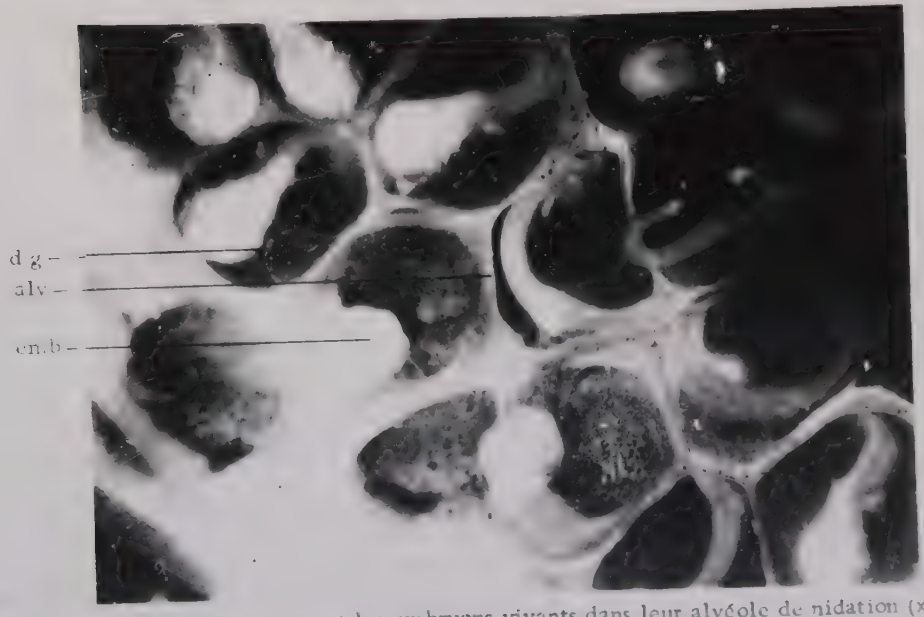


Fig. 42 : Marsupium ouvert montrant les embryons vivants dans leur alvéole de nidation (x 25)

[illegible] du chorion [illegible] n de gant et [illegible] plongeant dans la lumière marsupiale [illegible] emb[illegible]

de chaque alvéole, une partie du chorion étiré en doigt de gant fait saillie à l'extérieur et baigne dans le liquide marsupial ; il a été bien vu et décrit par RAUTHER (1925).

La prolifération épithélio-conjonctive qui conduit à la création de l'alvéole est un phénomène très rapide puisque dès le 2e jour, tous les œufs ont réalisé leur nidation. Très vite, les alvéoles présentent dans leur composant épithélial deux régions différentes (fig.43, p. 128) :

1°) Une région superficielle, vers la cavité centrale du marsupium, où l'épithélium conserve son allure pré-incubatoire : les cellules cubiques ou cylindriques montrent une stratification normale sur 2 couches.

2°) Une région profonde, à peu près limitée à l'hémisphère inférieur, situé contre la paroi marsupiale ou contre le plan sagittal du bourrelet dorsal : l'épithélium très aplati, laminé, endothéliforme ne montre plus de stratification visible.

En même temps que se différencie l'alvéole épithélio-conjonctif, un puissant glomérule artério-veineux se développe immédiatement sous l'épithélium et plus particulièrement dans la région alvéolaire profonde, où il réalise une varitable nappe sanguine séparée du chorion, à ce niveau, par un épithélium extrêmement aminci (fig. 43 et 44, p.128).

La formation de l'alvéole est bien active et due très vraisemblablement à la prolifération épithéliale ; deux faits viennent appuyer cette hypothèse :

1°) Juste avant l'accouplement, les noyaux épithéliaux atteignent leur taille maximum (diamètre moyen compris entre 4, 8 et 5, 2 μ) alors qu'au premier jour de l'incubation, elle est minimum (3, 2 μ). Cela suggère une multiplication cellulaire active, se situant après l'accouplement, conduisant à des noyaux fils de taille moindre. L'observation de mitoses assez nombreuses corrobore cette interprétation.

Cependant, surtout dans la région alvéolaire profonde, il se

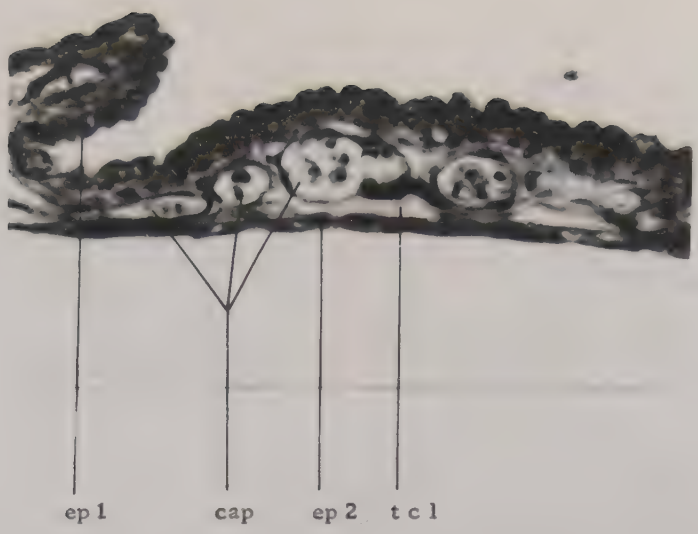


Fig. 43 : Coupe transversale de la paroi alvéolaire (x 510)

ep 1 : épithélium marsupial superficiel ; ep 2 : épithélium marsupial aplati sur le chorion de l'œuf ; cap : capillaires ; t c 1 : tissu conjonctif lâche.

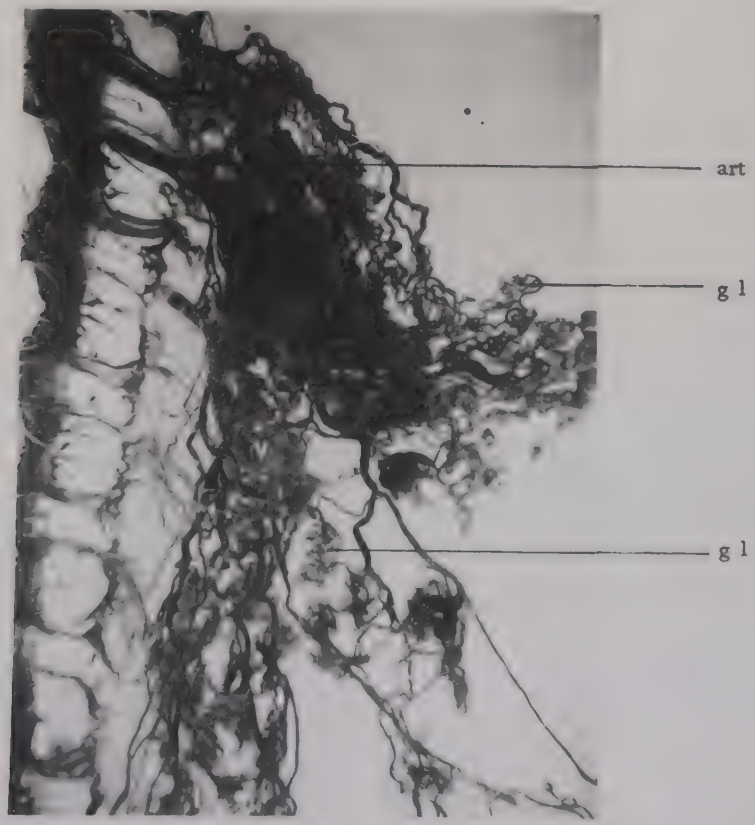


Fig. 44 : Irrigation du marsupium pendant l'incubation (Injection de résine vinylique) (x 15)

art : racines artérielles issues de l'artère caudale ; g 1 : glomérule se développant dans la paroi de l'alvéole de nidation (On notera l'importance de l'irrigation marsupiale).

surajoute un deuxième phénomène. Les cellules épithéliales s'étirent, s'amincissent et s'étalent sur le chorion, indépendamment de leur multiplication. Il existe en effet, à ce niveau, moins de noyaux pour la même distance linéaire, que dans la région superficielle. Cet étirement est en partie actif et en partie dû à l'augmentation de taille de l'œuf.

2°) J'ai introduit à plusieurs reprises dans les marsupiums mûrs des sphérules en matière plastique, ayant la taille et à peu près la densité des œufs réels. Elles ont été expulsées dans des délais variant entre 48 et 92 heures. Je n'ai jamais obtenu même l'ébauche d'un alvéole ou d'un glomérule artério-veineux. La formation de l'alvéole n'est donc pas une réaction de l'épithélium à un corps étranger quelconque : c'est par sa nature que l'œuf induit la formation des structures complexes qui l'entourent, ce qui est à rapprocher des phénomènes de nidation chez les Mammifères (COURRIER, 1945 ; CHAMBON, 1949 ; SHELESNYAK, 1957).

2°) Evolution du marsupium au cours de l'incubation. -

Les structures marsupiales vont se modifier considérablement au cours des 21 jours de l'incubation. J'exposerai ces modifications successivement pour l'épithélium, le tissu conjonctif, le tissu conjonctif dense.

a) Epithélium. -

1 - Epithélium alvéolaire superficiel. -

Il reste toujours pauci-stratifié (2 à 3 couches) formé de cellules cubiques ou cylindriques. Il est le siège de modifications de structures et d'activité très particulières.

J'ai apprécié l'activité de cet épithélium en mesurant stade par stade le diamètre nucléaire moyen des cellules de la couche épithéliale superficielle.

Ces mesures (1) sont transcrites par la courbe de la fig. 45, p.130 .

---

(1) On trouvera avec elles, les mesures parallèles correspondant aux différents mois de l'année.

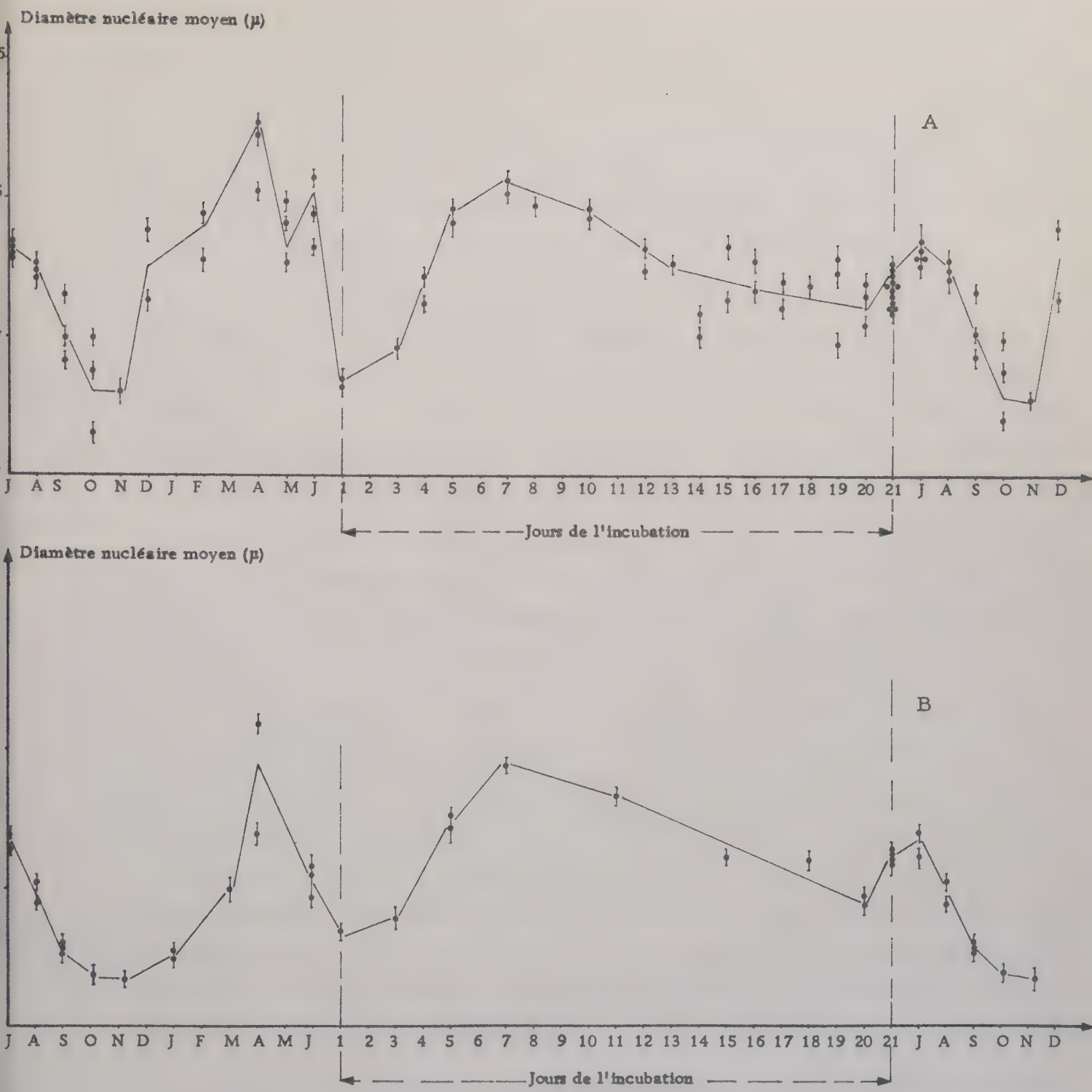


Fig. 45 : Variations du diamètre nucléaire moyen de l'épithélium marsupial au cours de l'année

A - Hippocampus guttulatus B - Hippocampus hippocampus

A partir d'elles et d'observations histologiques, on peut résumer ainsi l'évolution de l'épithélium alvéolaire superficiel.

1°) Du 1er au 3e jour de l'incubation, les cellules épithéliales ne diffèrent pas sensiblement de celles des animaux mûrs, excepté la taille réduite des noyaux et leur région apicale légèrement globuleuse ou boursouflée, au lieu d'être rectiligne. On note la présence d'assez nombreuses mitoses.

2°) Du 3e jour au 11e, le noyau grandit rapidement et fortement (le diamètre moyen passe de 3,8 μ à 5,2 μ). Il contient des grains de chromatine assez gros et nombreux, leur nucléole est très grand et pariétal. On trouve encore quelques mitoses. Le cytoplasme très basophile prend fortement les colorants nucléaires et apparaît presque aussi foncé que les noyaux. Mais surtout la zone apicale des cellules manifeste une activité remarquable ; elle devient globuleuse et pousse un prolongement claviforme ou conique plus ou moins aigu qui s'allonge parfois beaucoup. Ces extrémités apicales bulbeuses plongent dans le liquide marsupial et sont nimbées d'un coagulat acidophile qui rend indistinct à ce niveau les limites cellulaires (fig. 46 et 47, p.132 et 133).

Souvent, la masse apicale s'étire, se scinde à sa base et se répand dans la lumière marsupiale sous la forme d'un coagulat plus ou moins granuleux fortement éosinophile. Parfois, le noyau est entraîné dans ce prolongement apical et on retrouve ses restes pycnosés dans le coagulat marsupial. Des images histologiques nombreuses et variées montrent sans aucun doute que nous sommes en présence d'une secrétion des cellules épithéliales de type mérocrine pouvant devenir apocrine ou même holocrine à certaines périodes d'activité ; les images sont comparables à celles décrites par COHN (1904), KOLSTER (1907) et RAUTHER (1925).

3°) Du 12e au 19e jour, cette activité secrétoire involue régulièrement, la taille des noyaux décroit, le nucléole devient petit et même indistinct, les expansions apicales se réduisent, le cytoplasme est peu colorable, les cellules redeviennent à peu près cubiques et régulières avec un apex à peine globuleux.

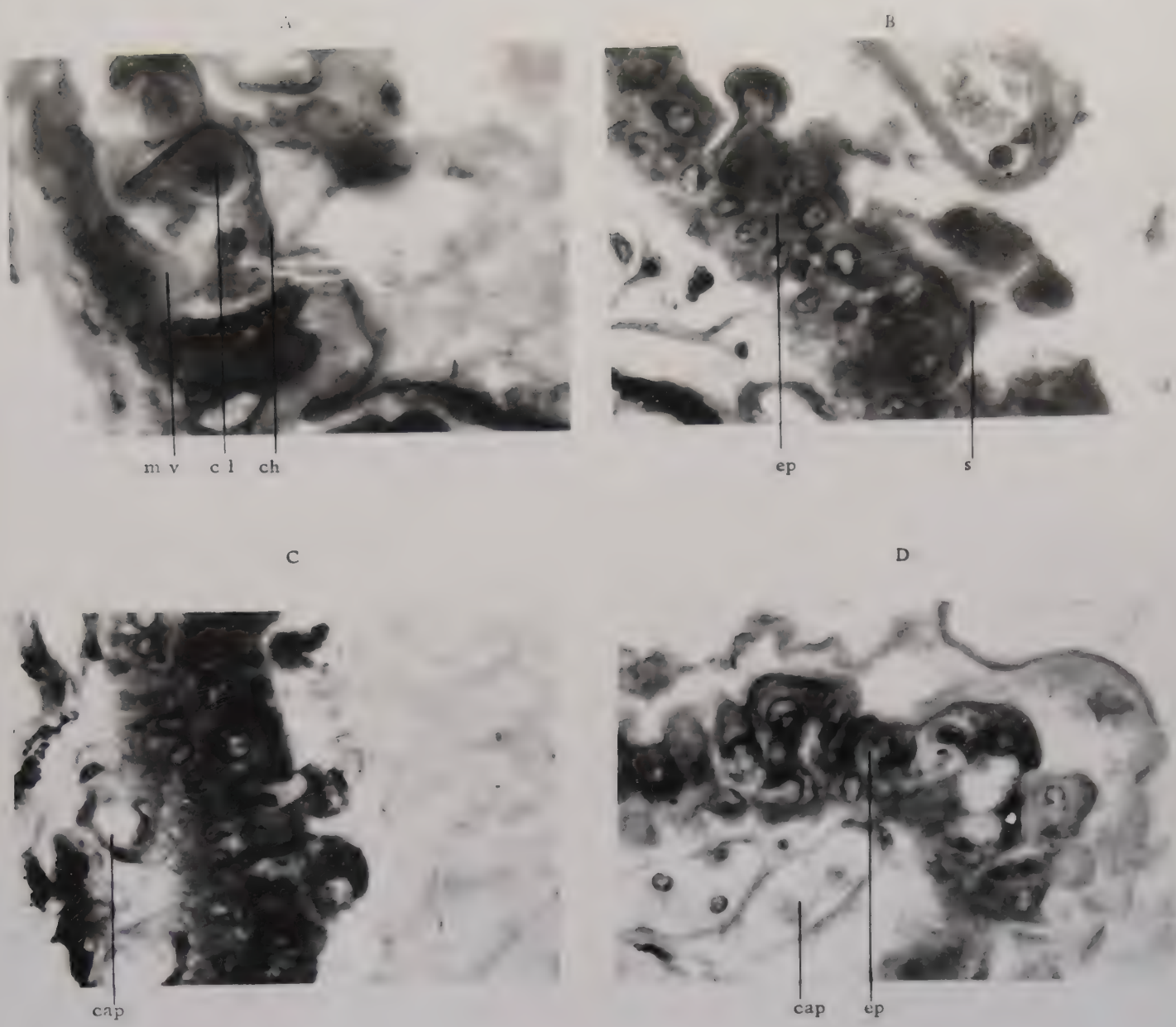


Fig. 46 : ACTIVITE SECRETOIRE DE L'EPITHELIUM MARSUPIAL

A - B - C - D : Figures de sécrétion et de libération cellulaire (x 1275)

cap : capillaires ; ch : chorion ; c l : cellules épithéliales libérées ; ep : épithélium marsupial ; m v : microvilli (vu de face) ; s : sécrétat.

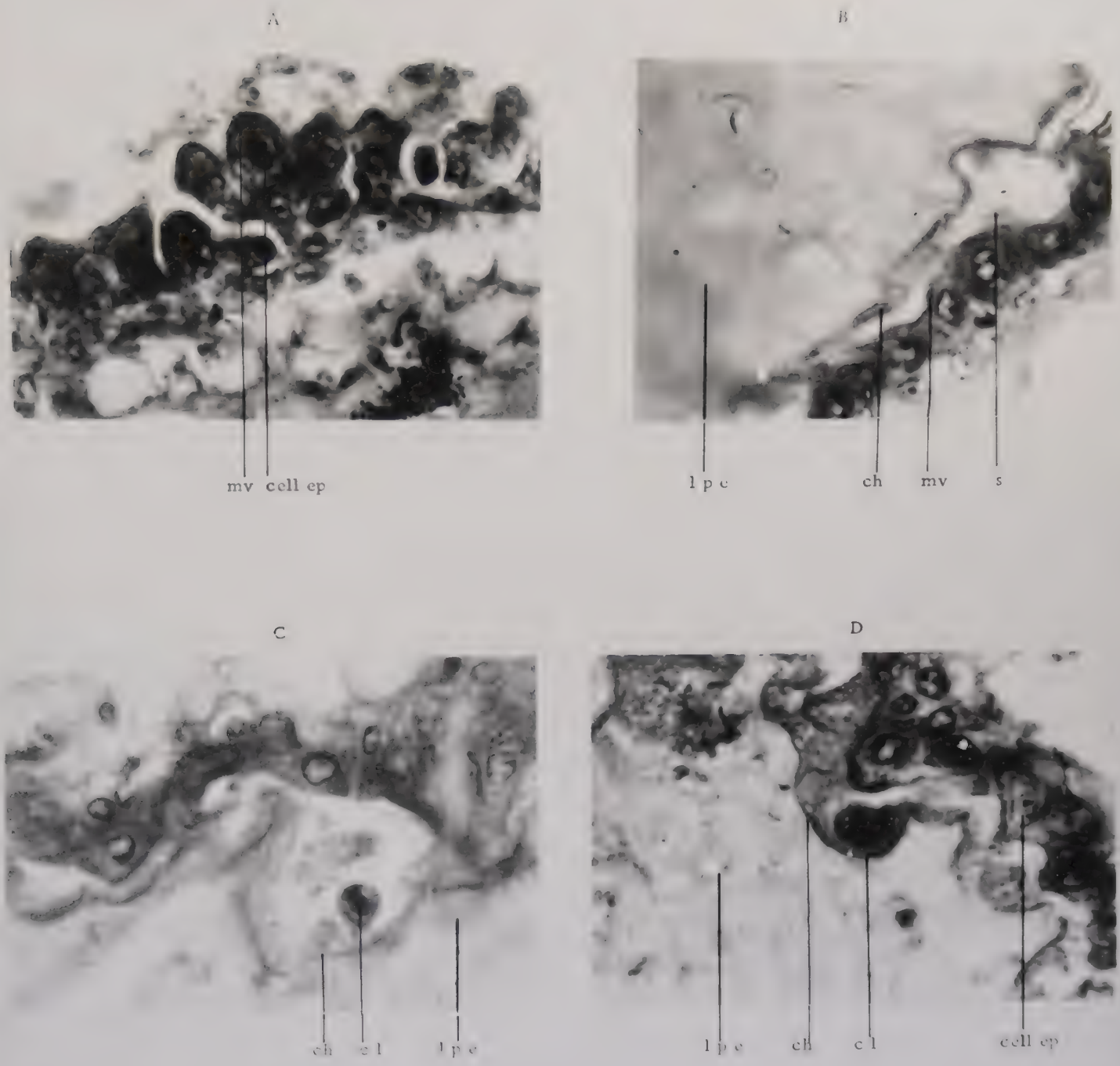


Fig. 47 : Activité sécrétoire de l'épithélium marsupial (x 1275)

ch : chorion ; cell ep : cellules epithéliales ; c l : cellules libérées ; l p e : liquide péri-embryonnaire ; mv : micro-villi ; s : sécrétat épithélial.

En même temps, la croissance de l'embryon distend le chorion qui entraîne l'épithélium avec lui, l'étirant même considérablement, et réduisant beaucoup les zones à épithélium secrétoire superficiel normal.

2 - Epithélium profond. -

1°) Du 1er au 4e jour, il est peu aplati et demeure encore vaguement cubique ; on distingue bien les noyaux et les limites cellulaires bien que la stratification ait tendance à s'estomper.

Dès le début de l'incubation, on peut voir, en coupe, dans la zone apicale de la cellule, surtout au niveau du noyau, de fins prolongements aigus, pointés vers le chorion sur (ou dans) lequel ils s'insèrent. En réalité, ils correspondent aux sections transversales de crêtes plus ou moins parallèles et sinueuses de la surface apicale des cellules ; vues de face, elles simulent parfaitement des empreintes digitales. Ces crêtes avaient été vues par COHN, KOLSTER et RAUTHER qui les avaient correctement interprétées ; LINTON et SOLOFF les assimilent à des microvilli. Elles s'appliquent ou s'insèrent dans des rigoles de même forme du chorion. Ces formations appartiennent bien en propre aux cellules et ne sont pas le résultat du modelage de leur apex sur le chorion, puisqu'elles existent aussi chez les cellules de l'épithélium superficiel qui ne sont pas en contact avec lui (fig. 46, 47, pp. 132-133).

Ces prolongements apicaux fortement appliqués et insérés sur le chorion le maintiennent en place de façon très efficace et il est pratiquement impossible d'extraire l'embryon dans ses membranes hors de l'alvéole où il est solidement ancré.

2°) Du 5e au 21e jour, sous l'influence de l'augmentation de volume de l'embryon, le chorion s'amincit considérablement entraînant l'épithélium qui en fait de même. Il devient très vite si mince que les limites cellulaires deviennent indistinctes et, à partir du 14e jour, les noyaux sont très aplatis et déformés.

A partir du 15e jour, la réduction progressive des microvilli prépare et favorise la libération des enveloppes au moment du part.

Les cellules épithéliales profondes restent-elles secrétoires comme les cellules épithéliales superficielles, ou leur aplatissement extrême leur enlève-t-il toute fonction sécrétoire ? Il est difficile de répondre en toute certitude par la seule observation microscopique, car elles sont à la fois extrêmement amincies et étroitement appliquées sur le chorion, ce qui rend malaisée l'observation de l'espace qui les sépare. Cependant, un certain nombre d'arguments plaident en faveur d'une activité sécrétoire de l'épithélium profond :

- la nature de l'épithélium est la même, malgré l'apparence ; si dans la partie supérieure on peut facilement observer une sécrétion sous l'influence d'action hormonale dont nous verrons la nature, il n'y a pas de raisons à priori, que, même distendu, il ne réponde pas de la même façon aux mêmes stimuli,

- dans certaines régions favorables, on peut voir entre les cellules épithéliales et le chorion un coagulat homogène qui semble bien avoir été sécrété in situ,

- le passage de la zone cubique sécrétoire à la zone aplatie, se fait progressivement et l'on trouve tous les stades intermédiaires du développement des structures apicales.

b) Tissu conjonctif lâche. -

Les modifications de structure du tissu conjonctif lâche sont relativement peu importantes ; on peut cependant distinguer les étapes suivantes :

- Du 1er au 4e jour, pendant et immédiatement après l'édification des alvéoles, le tissu conjonctif fortement comprimé et refoulé contre les parois du marsupium possède une substance fondamentale très fortement colorable par l'éosine, les fibres collagènes peu importantes sont disposées anarchiquement et de nombreuses fibrilles élémentaires sont visibles. Les éléments mobiles sont nombreux et tout particulièrement les lymphocytes. Le nombre des capillaires sous-épithéliaux augmente légèrement.

- Du 5e au 12e jour, on assiste à une forte poussée congestive. Les vaisseaux issus de l'artère caudale sont gros, fortement dilatés, nombreux ; leurs ramifications sont très importantes, les minuscules capillaires sous-épithéliaux (du diamètre d'une hématie) particulièrement abondants ; les glomérules artério-veineux sont définitivement constitués. Dans les parois des alvéoles, où tout se passe comme si le feuillet épithélial se réfléchissait sur lui-même en entraînant ses capillaires sous-jacents, il y a formation d'une véritable nappe sanguine.

En même temps, on constate une fluidification poussée de ce tissu conjonctif dont les fibres fines et relativement peu nombreuses sont dispersées dans une substance fondamentale peu ou pas colorable. En outre, l'augmentation progressive de la taille des embryons, donc des alvéoles de nidation, étire ce conjonctif vers l'intérieur du marsupium, le lamine vers les parois, si bien que sur coupes il se réduit à de fins tractus qui semblent cloisonner la cavité marsupiale.

- Du 13e au 21e jour, on ne note aucun changement dans l'irrigation; les phénomènes d'étirement du conjonctif prennent une ampleur considérable. Au moment de la parturition ce tissu ne représente plus qu'un voile extrêmement ténu et fragile emballant les alevins.

c) Tissu conjonctif dense. -

Il y a peu de choses à dire sur l'évolution de la paroi conjonctive dense.

Dans les tous premiers jours de l'incubation (1er - 3e), elle se modifie peu par rapport à celle des animaux mûrs. Encore épaisse, elle est formée de fibres collagènes larges et peu tortueuses, plus ou moins anastomosées, contenant dans leurs mailles de nombreux capillaires. Seuls les plis longitudinaux ont disparu.

A partir du 4e jour, jusqu'au 21e, cette paroi se distend progressivement et très considérablement, d'autant plus que les œufs incubés sont plus nombreux. On assiste à une diminution remarquable de l'épaisseur

des parois (fig. 48, p. 138) : les fibres collagènes qui la composent deviennent parfaitement parallèles, circulaires, très étroites et coalescentes. Les capillaires sont petits et peu nombreux. Au part, la cavité marsupiale n'est séparée de l'extérieur que par l'épiderme et un feuillet conjonctif extrêmement mince.

d) Parturition. -

Au 21e jour, l'ensemble des structures marsupiales est à son maximum d'étirement, mais tous les alevins sont enveloppés dans leurs membranes et logés dans leur alvéole.

A ce moment, les jeunes font preuve d'une grande activité, leurs mouvements sont violents et incessants. Ils se libèrent de leurs enveloppes et certains quittent leur alvéole et viennent se placer libres dans la lumière centrale. Il est certain que cette agitation croissante des alevins influe sur le comportement du père en voie de parturition, en déclenchant par voie nerveuse (le marsupium est très richement innervé) d'abord le relâchement du sphincter marsupial, puis le reflexe actif d'expulsion des jeunes (cf. FIEDLER, 1954). Dès que les premiers embryons sont expulsés, la place libérée par leur départ favorise l'extraction des autres et le phénomène s'accélère en s'étendant. En quelques heures, en général nocturnes, tous les alevins sont expulsés.

Aussitôt les structures internes marsupiales vont se modifier très rapidement. Tout le tissu conjonctif distendu par la croissance embryonnaire et l'augmentation de volume du liquide marsupial, va tendre à reprendre des proportions normales dans les délais les plus brefs : le tissu conjonctif dense des parois s'épaissit considérablement en quelques heures, les fibres qui le composent vont reprendre leur épaisseur et leur longueur initiale. Ainsi, le volume de la poche diminue très fortement, la cavité centrale se réduit et la paroi de la région postérieure s'applique contre les vertèbres caudales (fig. 49 A, p.138).

En même temps, le tissu conjonctif lâche, en particulier sous

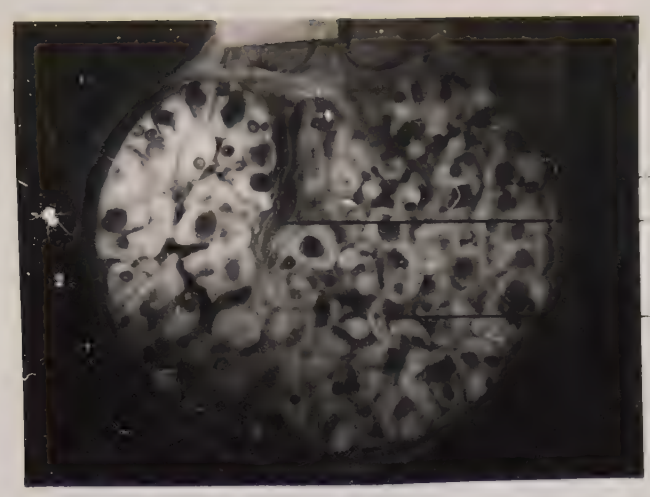
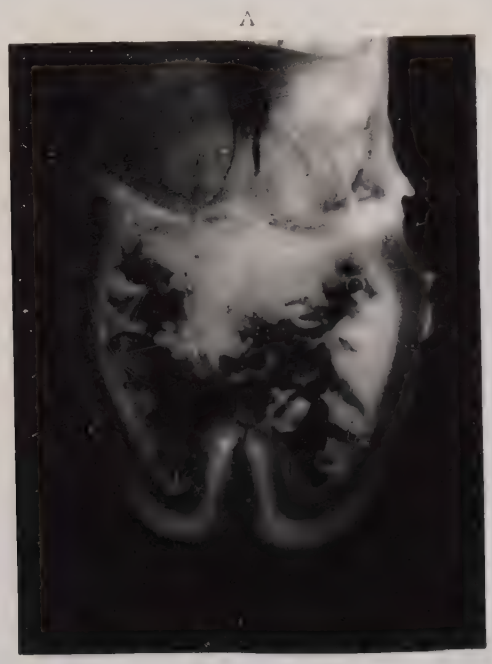
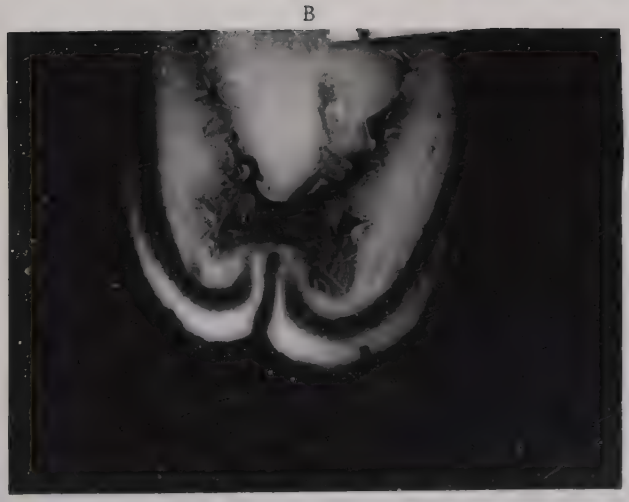


Fig. 48 : Marsupium de mâle incubant (stade 16) - Coupe transversale (x 3)

emb : embryon ; p c d : paroi conjonctive dense ; t c l : tissu conjonctif lâche





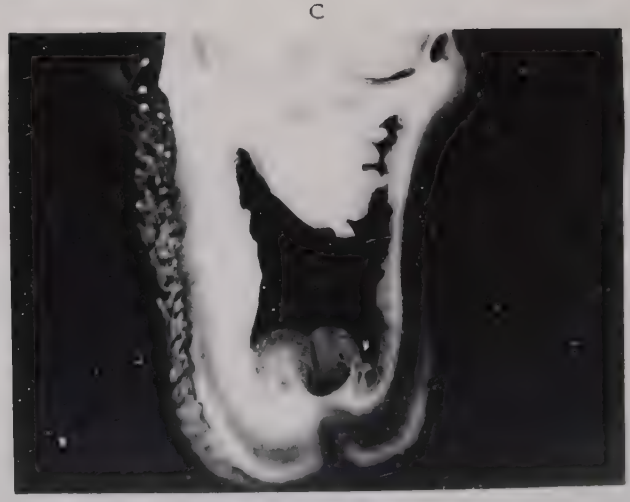


Fig. 49 : Evolution du marsupium [illegible]

l'influence de ses fibres élastiques, résorbe très vite les alvéoles qui s'effondrent, s'amenuisent et disparaissent presque entièrement en 2 ou 3 heures, seul restant apparent à la surface épithéliale interne un réseau grillagé légèrement en relief. En même temps, la substance fondamentale devient dense et fortement éosinophile. Dans ce mouvement général de relâchement qui restitue les structures marsupiales à un niveau peu différent de celui des animaux mûrs, les noyaux eux-mêmes acquièrent un volume nettement supérieur à celui qu'ils avaient au 19e - 20e jour (fig. 49 B, p. 138).

Bref, le marsupium, très rapidement, présente une paroi conjonctive dense, épaisse, entourant un massif de tissu conjonctif lâche, fortement colorable, assez peu irrigué en surface, recouvert d'un épithélium cubique, à noyaux moyens et nucléoles petits, à cytoplasme peu colorable. Ce tissu emplit pratiquement toute la cavité marsupiale dont la lumière centrale est réduite à une fente en X. En même temps, le marsupium diminue de volume : outre le tassement des parois vers la partie dorsale, une poussée de tissu conjonctif oblitere d'arrière en avant dans la région caudale la fente qui subsiste entre la paroi et les vertèbres. Ces phénomènes, dûs à peu près uniquement à l'élasticité passive des tissus, sont très rapides, variables suivant les individus et durent de quelques heures à 48 heures en général.

IV. - VARIATIONS DE VOLUME DU MARSUPIUM AU COURS DE L'INCUBATION. -

Les dimensions, donc le volume du marsupium, varient beaucoup du début à la fin de l'incubation. Il était intéressant d'étudier ces variations en fonction du temps et éventuellement en fonction de la taille de l'animal et du nombre des embryons.

1°) Technique de mesure du volume interne du marsupium. -

Rempli d'embryons, le marsupium affecte la forme d'un

ovoïde aplati dissymétriquement. Il a donc une forme mal définie, variable en fonction du temps et d'un individu à l'autre, n'autorisant pas la mesure précise de paramètres permettant d'établir le volume intérieur marsupial. Cette difficulté a été tournée par le biais suivant :

a) J'ai mesuré directement le volume interne d'un certain nombre de marsupiums fixés, vidés avec précaution de leurs embryons, en les remplissant de liquide au moyen d'une burette graduée : le volume versé égale évidemment le volume de la cavité marsupiale.

b) En même temps, sur les mêmes animaux, j'ai mesuré au pied à coulisse (fig. 50, p.141) :

- la distance séparant l'anus de l'extrémité postérieure du marsupium : λ
- l'épaisseur maximum du marsupium mesurée à partir de l'apophyse du bouclier dermique latéro-ventral, au niveau de la 2e vertèbre caudale : e
- la longueur maximum : Λ

L'expérience montre en effet qu'il y a entre le volume réel du marsupium et ces paramètres une relation constante et suffisamment précise que le graphique de la figure 51 page141 met en évidence.

En effet, si on trace une droite OA (fig. 51, p.141) sur laquelle on reporte les valeurs du produit $\lambda \Lambda e$ et qu'on fasse correspondre à chaque point ainsi obtenu les volumes réels correspondants mesurés directement, on constate que les points représentatifs de ces derniers s'alignent de manière très satisfaisante sur une nouvelle droite BC. On possède ainsi une abaque permettant de faire correspondre à chaque produit $\lambda \Lambda e$ un volume calculé.

L'expérience prouve que la précision de la méthode n'est pas absolue, mais que l'erreur fluctue suivant les marsupiums entre 5 et 10 % du volume total dans les cas les moins favorables.

2°) Relation entre la taille et le volume "initial" du marsupium (fig. 52 A, p. 142). -

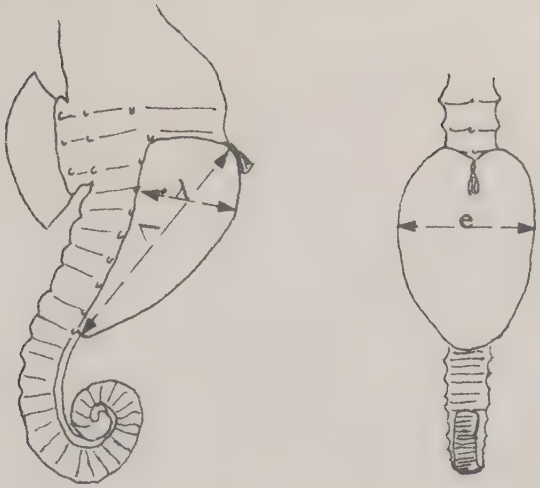


Fig. 50 : Mensurations du marsupium

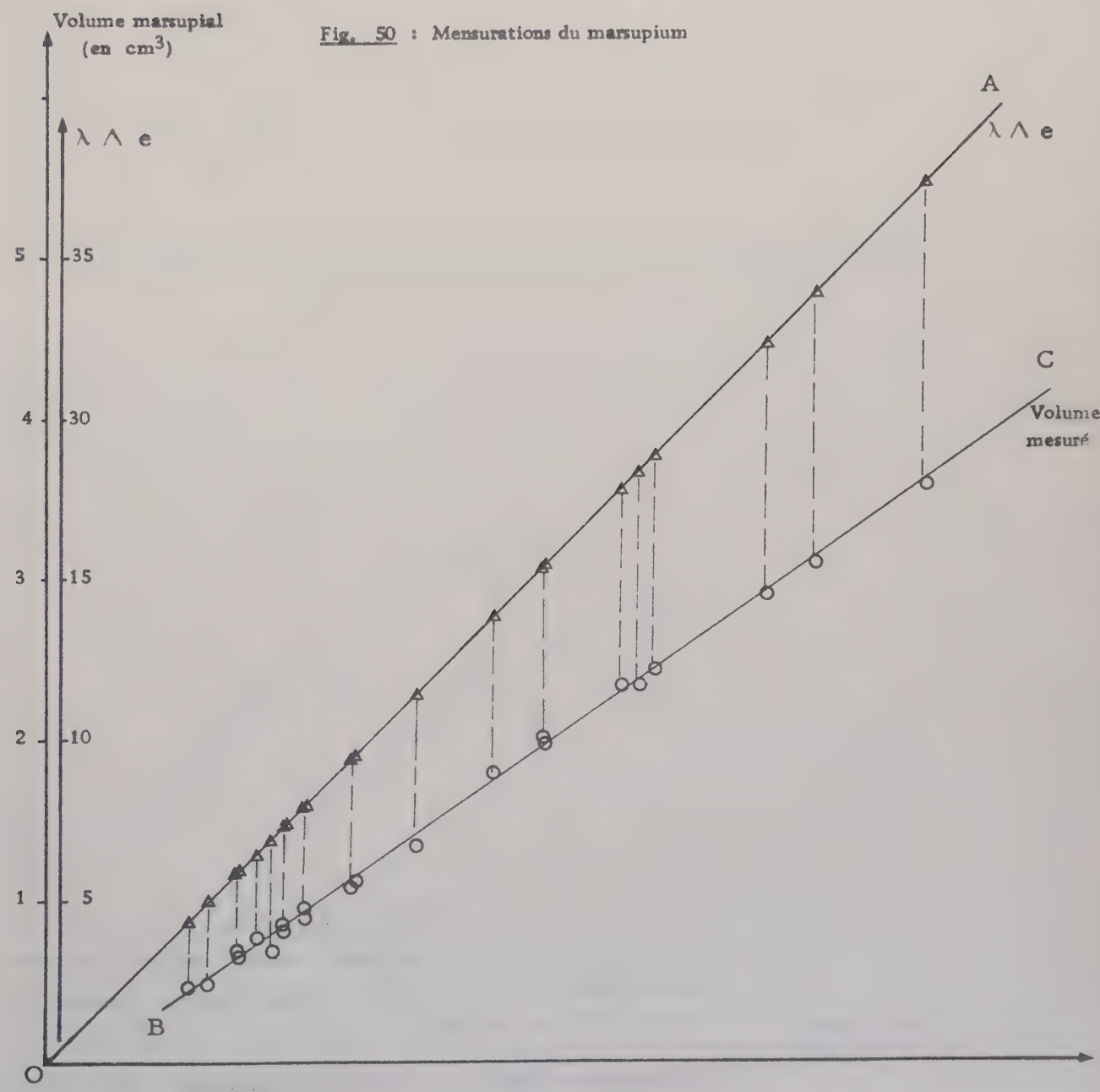


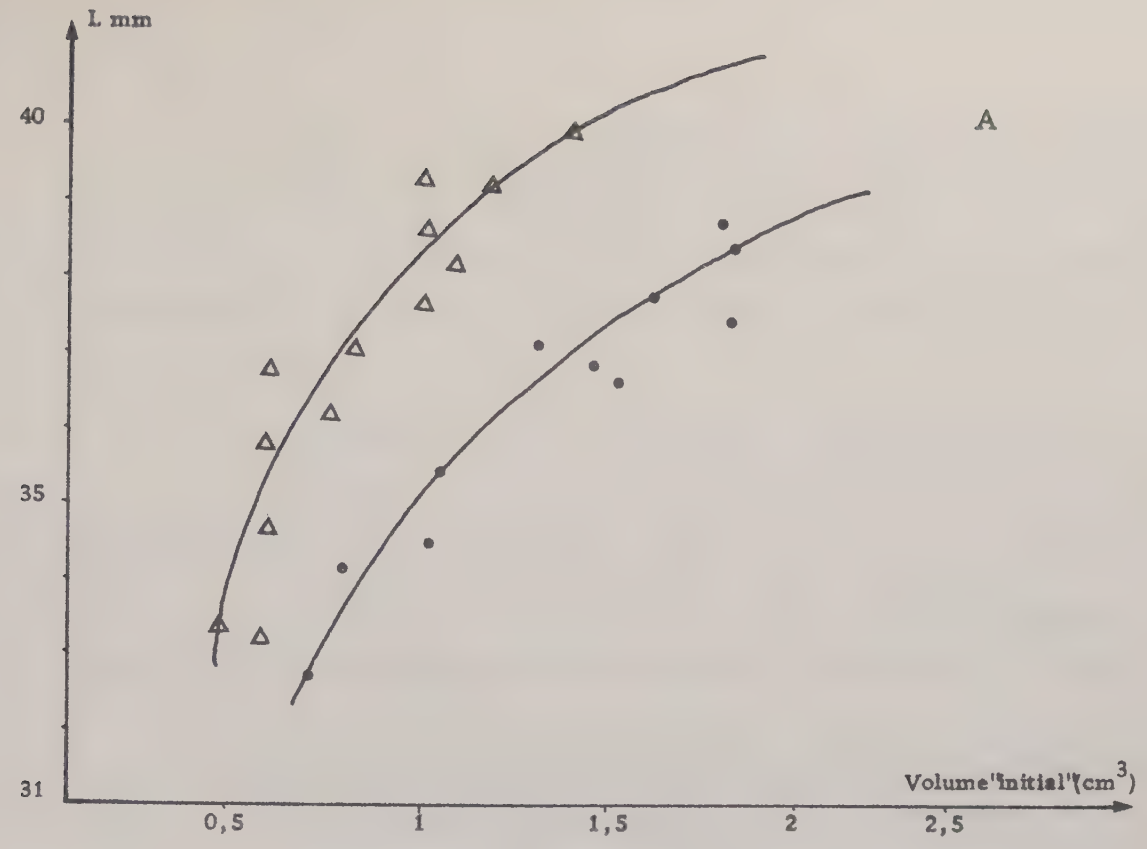
Fig. 51 : Diagramme permettant de calculer les volumes des marsupiums connaissant leurs mensurations.

-. Légende de la figure 52 .-

A : Relation entre la taille de l'animal et le volume "initial" du marsupium.

B : Relation entre la taille de l'animal, le volume "final" du marsupium et le nombre d'embryons incubés.

Δ Hippocampus guttulatus • Hippocampus hippocampus 243 : nombre d'embryons


L mm
40
35
31
A
Volume 'initial' (cm3)
0,5
1
1,5
2
2,5

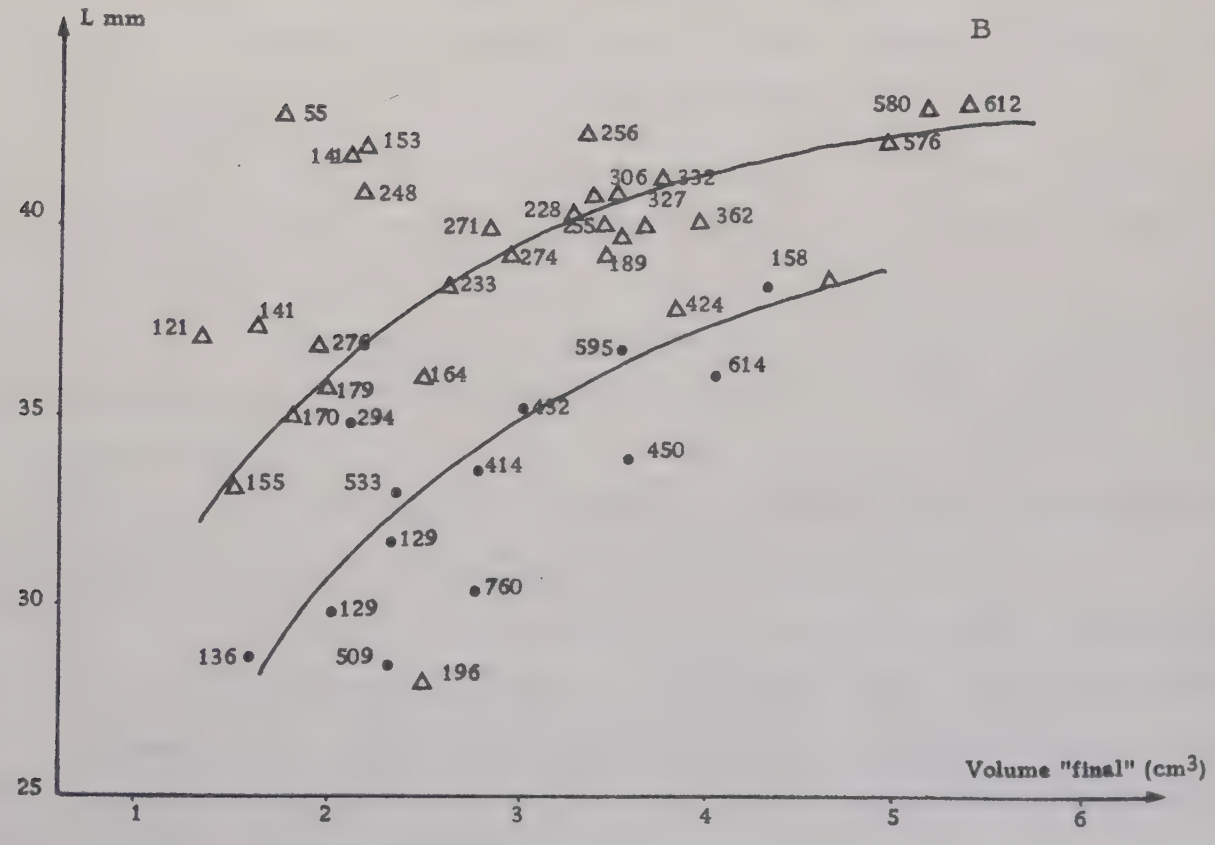

L mm
B
40
35
30
25
55
153
141
256
580
612
576
306
332
248
327
228
271
362
274
189
158
233
424
121
141
276
595
614
164
179
170
294
452
450
155
533
414
129
760
129
136
509
196
Volume "final" (cm3)
1
2
3
4
5
6

Fig. 52 .

Si pour chaque Hippocampe mâle, on porte en ordonnée la longueur du tronc (L), et en abscisse le volume "initial" (V_i) du marsupium prêt à recevoir les œufs, les points obtenus se répartissent de manière très satisfaisante sur des courbes d'allure hyperbolique, différentes pour chaque espèce. Il en ressort que :

- le volume initial reste toujours compris entre 0,5 et 2 cm^3,
- ce volume est assez strictement proportionnel à la taille de l'animal, à laquelle il est lié par une relation d'allométrie fortement majorante,
- le marsupium est plus volumineux chez Hippocampus hippocampus que chez Hippocampus guttulatus pour des animaux de même taille.

3°) Relation entre la taille du mâle, le volume "final" du marsupium et le nombre d'embryons (fig. 52 B, p. 142). -

On établit comme précédemment, le graphique représentant des relations entre le volume "final" (V) du marsupium juste avant la parturition (en abscisse) et la taille du tronc (L)(en ordonnée). En outre, on note pour chaque individu le nombre d'alevins émis.

La majorité des points obtenus (70 %) se placent de façon satisfaisante sur des courbes d'allure identique aux précédentes et dont il ressort que :

- ces volumes sont compris entre 1,5 cm^3 et 6 cm^3, les valeurs inférieures ou supérieures dans les conditions normales sont tout à fait exceptionnelles,
- à taille égale, ici aussi, les volumes finaux sont beaucoup plus importants chez H. hippocampus que chez H. guttulatus.

Pour 70 % des individus, il existe une relation assez étroite entre la taille du père, le nombre d'embryons incubés, et le volume final du marsupium ; en d'autres termes, il correspond à chaque taille une charge "normale" en œufs qui conduit à la réalisation d'un volume final "normal".

Les points situés en dehors de ces courbes représentent la minorité des mâles incubant un nombre d'embryons nettement différent de la moyenne attendue pour leur taille, nombre soit trop faible, le volume du marsupium étant trop petit par rapport à la taille, soit trop fort, le marsupium étant exceptionnellement volumineux (cette discordance étant beaucoup plus rare que la première).

Il y a donc d'une manière très générale une régulation approximative du nombre d'œufs déposés par les femelles dans le marsupium des mâles ; elle doit être liée à la taille de la femelle acceptée ou recherchée comme partenaire. Les charges excessives montrent en effet qu'un volume marsupial peut contenir plus d'œufs que le marsupium n'en reçoit en fait, c'est-à-dire que ce ne sont pas le débordement ou l'occlusion complète du marsupium qui limitent le nombre d'œufs déposés.

Il apparaît ainsi une relation que je considèrerai comme normale entre d'une part la taille du père et le nombre d'embryons incubés et d'autre part, le volume final du marsupium. Je reviendrai sur cette relation en la comparant à celle qui s'établit dans les mêmes conditions chez des animaux ayant subi diverses interventions expérimentales.

4°) Variation du volume marsupial en fonction du temps (fig. 53, p.145)

Ces mensurations permettent de construire les courbes de variations du volume interne du marsupium en fonction du temps. Ces courbes montrent que :

- le volume augmente du début à la fin de l'incubation, le plus souvent considérablement, mais cependant de façon très variable,

-toutes ces courbes individuelles se ressemblent beaucoup entre elles, et ont une allure caractéristique en S. D'une manière générale, le volume augmente peu et très progressivement du 1er au 12e-13e jour, puis à partir de cette date, beaucoup et brutalement jusqu'au 19e jour, enfin de façon très modérée ensuite jusqu'à la parturition.

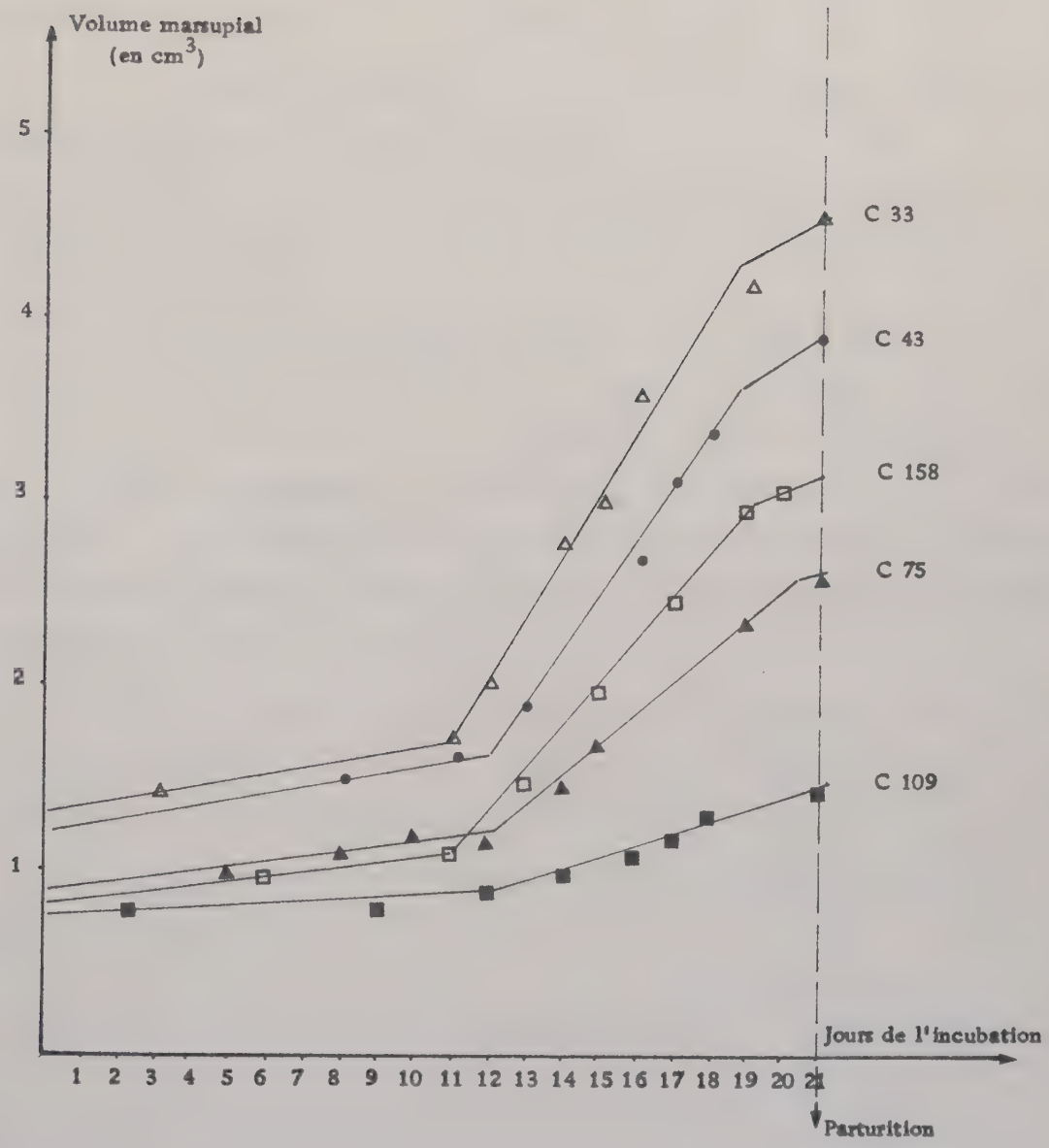


Fig. 53 : Variations du volume marsupial au cours de l'incubation.

5°) Influence du nombre des embryons. -

Nous avons vu précédemment que le volume final atteint par le marsupium est fonction à la fois de la taille de l'animal (volume potentiel) et de la charge en embryons. Ces relations influeront évidemment sur l'allure des courbes représentatives de l'accroissement du volume marsupial au cours de l'incubation comme le montrent les exemples suivants :

C 168 : (H. guttulatus : L = 29 mm, nb. emb. = 279 ; V = 3,1 cm^3) et C. 43 (H. hippocampus) : L = 36 mm ; nb. emb. = 595 ; V = 3,4 cm^3) illustrent des cas "normaux" : le volume initial quadruple, l'augmentation est très rapide du 11e - 12e jour au 18e - 19e jour, puis se ralentit jusqu'au 21e.

C 33 (H. guttulatus : L = 37 mm ; nb. emb. = 424 ; V = 3,7 cm^3) a une charge excessive ; l'accroissement de volume qui quintuple presque du début à la fin de l'incubation est très rapide du 11e au 17e jour et se ralentit ensuite. C 109 (H. guttulatus : L = 40,5 mm ; nb. emb. 114 ; V = 1,2 cm^3) porte une charge embryonnaire très faible, aussi l'accroissement du volume pendant la deuxième partie de l'incubation sera à peine plus rapide que pendant la première et se continuera jusqu'au 21e jour.

Ces courbes traduisent donc un phénomène qui paraît évident : l'accroissement du volume marsupial est conditionné par la croissance embryonnaire et il sera d'autant plus fort que le nombre des embryons est plus élevé. En fait, si c'est bien là le facteur essentiel, les phénomènes sont en réalité plus complexes (voir page 247).

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

-. Chapitre IV .-

ANALYSE DES CORRELATIONS HORMONALES IMPLIQUEES DANS L'INCUBATION

-:-:-:-:-:-:-

J'ai abordé cette analyse en étudiant, chez les Hippocampes mâles en voie d'incubation, les conséquences de la castration et de l'hypophysectomie. Puis, j'ai étudié les effets qu'entraînaient, chez les animaux ainsi opérés, les injections de diverses hormones. Les interprétations ainsi suggérées ont ensuite été soumises à divers essais de vérification.

I.- ACTION DE LA CASTRATION.-

J'ai effectué la castration totale bilatérale de 31 mâles incubants pris entre le 1er et le 13e jour de l'incubation (BOISSEAU, 1964). Les résultats sont résumés dans le tableau 15 page148.

Tous les opérés ont donné au 21e jour des alevins normaux, en tous points semblables à ceux des témoins, mais toutes les parturitions cependant ne sont pas parfaitement normales : 6 mâles (19 %) ont expulsé leurs alevins pendant 3, 4 ou 5 jours, alors que les témoins le font en 2 jours au

Mâles incubants castrés	Nom	Jours de l'incubation																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	P 33	x																				N	N	N		
	N 12	x																				N				
	P 35			x																		N	N	N	N	
	P 92				x																	N	N			
	N 28					x																N				
	P 75						x															N				
	P 91							x														N				
	P 33 bis							x														N				
	C 62									x												N				
	P 22										x											N+rét.				
	P 39										x											N+rét.				
	P 115											x										N				
	P 119													x								N		N	N	N
	C 174													x								N		N m+v		
	P 113													x								N+rét.				
	P 124																			x		N	N m+v			
	P 99			x																		N+rét.				

Légende : N : émission d'alevins normaux — rét. : rétention — N m+v : émission d'un mélange alevins morts et vivants.
x : jour de l'opération.

-. TABLEAU 15.-

maximum et 4 mâles (12 %) n'ont pas réussi à expulser la totalité de leur progéniture dont une partie est morte en rétention, entraînant à plus ou moins brève échéance la mort du père. Ces parturitions anormales sont-elles dues au traumatisme chirurgical et aux délabrements qui en résultent ou spécifiquement à l'élimination des hormones testiculaires ? Nous verrons (p.232) que chez les castrats, ni les organes impliqués dans le contrôle de l'incubation, ni les structures marsupiales ne sont significativement altérés par rapport à ceux des témoins ; d'autre part, la castration bilatérale chez l'Hippocampe comporte une large incision pariétale juxta-marsupiale qui perturbe sans doute les mouvements musculaires actifs du père au cours de la parturition. La cicatrisation épidermique est rapide, les soudures musculaires internes le sont certainement moins, Je pense donc, en m'appuyant en outre sur le fait que 69 % des castrés présentent une parturition normale, que ces

altérations du part, lorsqu'elles existent, ne sont dues qu'au traumatisme chirurgical et que le testicule ne joue aucun rôle dans le déroulement et le contrôle de l'incubation.

II. - ACTION DE L'HYPOPHYSECTOMIE. -(Fig. 54 et 55, p. 152). -

J'ai opéré par voie orbitaire 226 Hippocampes mâles incubants, soit H. guttulatus, soit H. hippocampus.

- 21 Hippocampes sont morts avant le part,
- 37 se sont révélés incomplètement hypophysectomisés et ont présenté une incubation normale libérant des alevins normaux au 21e jour (1)
- 16 ont été fixés à des dates diverses pour l'étude des phénomènes internes du marsupium
- 151 opérés ont été maintenus en vie avec les résultats suivants :

1°) Tous ont émis des alevins normaux au 21e jour,

2°) 22 (15 %) ont présenté une incubation normale,

3°) 28 (18,5 %) ont présenté des troubles de l'incubation visibles à partir du 21e jour seulement,

4°) 101 (66,5 %) ont présenté des troubles de l'incubation avant le 21e jour consistant en parturitions partielles prématurées.

Par conséquent, sans empêcher le développement embryonnaire normal d'une partie plus ou moins importante des incubés, l'hypophysectomie le trouble dans 85 % des cas, qui représentent la totalité des animaux opérés avant le 15e jour de l'incubation ; les 15 % qui ont présenté une incubation normale ont tous été opérés tardivement (après le 15e jour).

---

(1) En outre, toutes les expériences consistant à sortir puis à réimplanter une hypophyse in situ, (homo- ou hétéro-implantations) ont toujours (17 opérés) conduit à des parturitions parfaitement normales.

L'hypophyse intervient donc dans le maintien et le déroulement normal de l'incubation.

Son ablation modifie-t-elle sa durée ? La réponse expérimentale à ce problème est assez délicate. On serait tenté de prélever des embryons le jour de l'opération afin de préciser leur stade de développement, puis de vérifier si le part intervient bien dans les délais normaux ; une telle vérification se heurte cependant à de nombreux obstacles.

a) Toute extraction d'embryons du marsupium, surtout aux stades jeunes déclenche à peu près irrémédiablement un avortement intervenant plus ou moins tôt après l'opération et se manifestant en général par l'expulsion prématurée de tous les embryons.

b) L'hypophysectomie entraîne des perturbations du développement embryonnaire frappant une partie plus ou moins importante des animaux incubés et se traduisant surtout par une très forte dispersion des stades du développement à l'intérieur du marsupium.

c) Alors que la libération des jeunes s'accomplit normalement en quelques heures, nocturnes de préférence, elle peut chez les hypophyséoprives s'étendre sur plusieurs jours (de 1 à plus de 4).

Le tableau 16 résume une série de 5 expériences où (t_1) l'état de développement des embryons incubés avait été vérifié le jour de l'hypophysectomie ; t_2 indique le délai observé entre l'opération et l'émission des premiers alevins.

Nom	t_1 = Stade ou jour de l'opération	t_2 = Délai entre l'hypophysectomie et l'apparition des premiers stades 21	$t = t_1 + t_2$ = Durée du développement embryonnaire
X 18	9	13	22
X 20	16	5	21
X 21	12	9	21
X 22	5	16	21
X 24	11	11	22

-. TABLEAU 16 .-

Il en ressort que les premiers alevins normaux apparaissent dans des délais normaux (21 ± 1 jours) et donc que l'hypophysectomie n'a pas modifié la durée de leur développement. La date d'émission des premiers alevins par des animaux hypophyséoprives peut ainsi permettre de calculer à quel stade du développement se trouvaient à l'époque de l'intervention chirurgicale les embryons en incubation.

Les troubles apportés à l'incubation sont de nature si variée que pour mieux saisir le phénomène et définir les termes employés, je vais décrire, un cas précis, le mâle Hippocampus guttulatus N 85, par exemple.

Deux tableaux expriment la réponse de cet animal à l'hypophysectomie :

Hypophysectomisé le :	Nom	Jours de l'incubation																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
10e jour	N 85										x							p	p			N^*	N^*	N^*	N

-. TABLEAU 17.-

Le premier (tableau 17) représentatif du déroulement global de l'opération, se lit de la façon suivante :

N 85 hypophysectomisé (x) le 10e jour a présenté le 17e et le 18e jour des parturitions partielles prématurées (p) et a mis en liberté les 21e, 22e et 23e jours des alevins normaux mêlés à des embryons normaux ou anormaux (N^*), uniquement des alevins normaux le 24e jour (N).

Nom	Date d'émission des embryons	Stades														Ani.	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
		9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21								
N 85 (hypoph. le 10e jour)	29/7						11^+										11		163		45,7	
	30/7						11		4	7^+	24^+	20^+	71^+			15	152			279		78,4
	2/8								1	3^+	7^+	15^+	15	26		7	74					
	3/8									2^+	18^+	11^+		13		3	47					
	4/8											17	10	21		5	53					
	5/8													17		2	19					
	T_p.						22		5	12	49	63	96	77		32		356				

-. TABLEAU 18 .-

Fig. 54 : Exemple de parturition partielle prématurée (x 15)

Fig. 55 : Type d'individus libérés au 21e jour au cours d'une parturition anormale (N^{*})

A (x 15) : par un mâle hypophysectomisé le 8e jour de l'incubation

B (x 15) : par un mâle hypophysectomisé le 13e jour de l'incubation

N : oeuf normal.

Le second (tableau 18) précise les particularités de la progéniture de l'opéré. On l'interprète ainsi :

Le 29/7, émission de 11 embryons au stade 14, pas tout à fait normaux (11^{+}) ; le 30/7, 11 embryons du stade 14, 4 du stade 16, normaux, 7, 24, 20, 71 embryons respectivement des stades 17, 18, 19, 20, tous légèrement anormaux (+) et 15 embryons présentant de fortes anomalies empêchant de préciser leur stade embryonnaire (colonne An.) ; le 2/8, 1 embryon normal du stade 16, etc...

Alors que normalement, tous les alevins sont libérés au 21e jour, on trouve ici les catégories suivantes d'embryons :

1°) Des embryons émis avant terme mais à des stades de développement correspondant normalement à leur âge ; ils peuvent être normaux ou présenter des anomalies de taille, de proportions, de résorption du vitellus, etc... sans que ces perturbations empêchent cependant de reconnaître leur stade.

2°) Des embryons émis avant terme ou non à des stades moins avancés que ceux correspondant normalement à leur âge ; ils peuvent être normaux ou présenter diverses anomalies.

3°) Des alevins normaux ou anormaux émis à terme.

4°) Des embryons si profondément modifiés qu'ils ne peuvent être rattachés avec précision à un stade déterminé.

Nous appellerons :

- T_g le total général des embryons et alevins libérés,
- T_e le total des embryons expulsés avant le 21e jour,
- T_a le total des embryons et alevins anormaux quelle que soit l'époque de leur émission.

1°) Résultats globaux. - (Tableaux 19 et 20, pp. 154 à 165). -

Lorsqu'on considère les résultats de l'hypophysectomie (tableau 19) il apparaît clairement que le 14e jour revêt une importance particulière. En effet, sur 75 animaux opérés entre le 1er et le 12e jour, 73 (97 %)

-. TABLEAU 19 .-

Hypophysectomisé le :	Nom	Jours de l'incubation																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1er jour	V 9+	x															p				p	N				
	N 53	x																				N*				
	N 62	x																				N*				
	N 31	x																	p		p	N				
3e jour	V 83			x																		N*				
	V 88+			x																p		N*				
	V 190			x																p		N				
	X 6+			x																p	p	N*	N			
	P 59			x																	p	N*				
4e jour	V 85				x																	N*				
	N 78				x							p	p	p								N*				
	P 36				x																	N*				
5e jour	V 133					x											p		p			N				
	V 35+					x									p	p	p	p	p			N				
	V 162					x											p				p	N				
	X 22+					x														p		N*				
	X 27+					x												p				N*				
	P 29					x																N*				
6e jour	V 86+						x											p		p	p	N*		N*		
	V 139						x											p	p	p		N				
	N 55						x												p		p	N				
	X 23						x															N*				
7e jour	V 92							x											p	p		N				
	V 115							x										p		p		N				
	V 208+							x											p			N*	N			
	V 211							x						p	p					p		N				
	N 66+							x														N*				
8e jour	V 127								x						p					p		N*	N*			
	V 168								x								p		p			N*				
	N 30								x										p		p	N				
	X 28								x									p				N*	N*			
9e jour	V 91+									x					p							N				
	V 175									x					p				p			N				
	V 127+									x							p	p				N				
	N 64+									x							p					N				
	N 86+									x										p		N*				
	N 87+									x												N*				
	N 101+									x						p		p		p		N*		N		
	N 107									x						p						N	N			
	X 18+									x					p	p						N				
	X 19+									x										p		N				

-. TABLEAU 19 (Suite). -

Hypophysectomisé le :	Nom	Jours de l'incubation																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
10e jour	V 142										x					p	p		p			N*				
	V 166+										x					p		p		p	p	N*				
	V 170+										x			p								N*				
	V 171										x					p						N*				
	V 179+										x				p							N*				
	N 32										x				p							N*				
	N 77+										x					p						N*				
	N 85+										x							p	p			N*	N*	N*	N*	
	N 88										x						p		p			N				
	N 94+										x				p	p					p	N				
	P 136										x	p				p			p	p	p	N*				
	V 131										x				p		p		p			N*		N		
11e jour	V 81+											x		p					p			N	N	N		
	V 126+											x				p						N*	N*	N*	N*	
	V 132+											x										N*	N*			
	C 153+											x				p	p		p		p	N*				
	N 33											x					p		p		p	N				
	N 35											x			p							N				
	N 83+											x						p	p			N				
	X 24+											x			p	p	p					N*				
	T 5+											x				p						N*	N*			N
	T 6											x					p		p			N*				
12e jour	V 6												x					p	p	p		N				
	V 60+												x						p	p		N	N			
	V 72+												x						p	p	p	N*				
	V 141+												x		p			p	p	p	p	N*				
	V 167												x						p	p	p	N				
	V 173												x								p	N				
	V 174												x				p			p		N				
	V 218+												x				p					N				
	V 232+												x						p	p	p	N	N			
	X 21+												x			p	p		p	p		N				
	X 65+												x							p		N*	N*	N*		
	P 95												x			p				p	p	N*				
	P 96												x			p				p	p	N				
13e jour	V 223													x					p		p	N				
	V 224													x						p	p	N				
	N 102+													x		p			p	p		N			N	N
	N 106													x							p	N*			N*	
	X 76+													x					p	p	p	N*				
14e jour	V 176														x							N*	N*			
	V 184+														x				p		p	N*				
	V 206+														x						p	N				

-. TABLEAU 19 (Suite) .-

Hypophysectomisé le :	Nom	Jours de l'incubation																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
14e jour	N 105														x			p		p		N*				
	X 70+														x			p	p			N				
	X 72														x			p	p		p	N				
	X 78														x					p	p	N				
	X 82														x			p		p		N				
	X 83														x					p	p	N*				
15e jour	V 117															x						N*				
	V 177+															x				p		N	N			
	V 140+															x		p		p	p	N*	N*	N*		
	V 202															x						N*	N*			
	V 215+															x		p	p	p		N*	N*			
	V 253+															x		p	p		p	N*	N*			
	N 48															x						N*				
	N 49															x						N*				
	N 65															x					p	N*	N*	N*		
	N 108															x						N*				
	N 84+															x			p			N				
	X 71															x						N*				
	X 74															x						N*				
	T 11															x						N*				
16e jour	V 89																x					N				
	V 165																x					N				
	V 169																x					N				
	V 214+																x			p	p	N*	N*	N*		
	N 56																x					N				
	N 60+																x					N*				
	X 20																x					N*				
	X 60																x	p				N*				
	X 61																x	p				N*				
	X 63																x	p			p	N	N	N		
	X 73																x					N				
	X 80+																x			p	p	N*				
	C 183																x					N				
17e jour	V 11																	x				N*				
	V 212+																	x			p	N*	N*	N*	N*	
	N 40																	x				N				
	N 47																	x				N*				
	N 59																	x				N				
	N 76																	x				N				
	N 103																	x				N	N	N		
	X 69																	x				N				

-. TABLEAU 19 (Fin) .-

Hypophysectomisé le :	Nom	Jours de l'incubation																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
18e jour	V 71+																		x		p	N*	N*	N*	N*	N*	N*
	V 75																		x			N					
	V 77+																		x		p	N*	N*	N	N		
	V 210																		x			N	N				
	V 216																		x			N*					
	X 64																		x			N	N				
	X 68																		x			N*	N*	N*	N*		
	X 67																		x			N*	N				
	N 34																		x			N*	N*	N*		N	
	C 176																		x			N		N	N		
19e jour	V 74																			x		N					
	V 12																			x		Nm					
	V 87																			x		N*	N				
	V 158																			x		N*	N*				
	V 213+																			x		N*		N*		N*	
	N 54																			x		Nm					
	X 59																			x		N					
	X 81																			x		N					
	P 94																			x		N*					
20e jour	V 222																				x	N					
	V 248																				x	N					
	V 249																				x	N					
	N 84																				x	N					
	X 29																				x	N*	N				
	T 8																				x	N	N				
	T 10																				x	N*					
21e jour	V 159																					xN					

ACTION DE L'HYPOPHYSECTOMIE SUR L'INCUBATION CHEZ L'HIPPOCAMPE

Résultats généraux

x : jour de l'hypophysectomie — p : parturition partielle prématurée

N : parturition normale — N* : parturition anormale

Nm : parturition normale, mais libérant parmi les alevins normaux des alevins morts.

(L'action détaillée de l'hypophysectomie sur la progéniture des individus marqués d'une croix (V 213+) est étudiée dans le tableau 20)

-. TABLEAU 20 .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Ano.	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
V 9	1er jour	8/7						1	15	3							19		40		21,2	
		12/7											14	7			21			40		21,2
		13/7													148		148					
								1	15	3			14		148			188				
X 31	1er jour	4/7									4	3	1				8		29		11,9	
		6/7										2	8	11			21			29		11,9
		7/7													214		214					
											4	5	9	11	214			243				
N 62	1er jour	2/8									3		7	11	196	4	221		0		0	
											3		7	11	196	4		221		25		11,3
V 88	3e jour	19/7									1	4	9			14			14		9,5	
		21/7											16	20	97	133				60		34,0
											1	4	25	20	97			147				
X 6	3e jour	17/6							2			2	2				6		6		4,6	
		20/6							14*		4	8	2	10*	40	5	83			49		37,4
		21/6													42		42					
									16		4	10	4	10	82	5		131				
N 78	4e jour	28/7		2	13*												15		38		15,0	
		30/7			8	15											23			52		20,5
		8/8							3*						201	11	215					
				2	21	15			3						201	11		253				
N 85	4e jour	19/7									1*	3	3	8	133	6	154					
											1	3	3	8	133	6		154				
V 135	5e jour	21/7				1	1										2		59		19,7	
		22/7					1	2	5							2	10			77		25,7
		23/7							2	15	11	1	1				30					
		24/7								1	9	1	1			4	16					
		25/7											1				1					
		28/7												18	222		240					
						1	2	2	7	16	20	2	3	18	222	6		299				
X 22	5e jour	19/6							12*				11				23		23		6,6	
		21/6					1*	1*		13			17		279	15	326			70		20,1
							1	1	12	13			28		279	15		349				
X 27	5e jour	18/6						4	11	2							17		17		5,2	
		22/6													307		307			17		5,2
								4	11	2					307			324				
V 86	6e jour	15/7									12	6					18		48		15,0	
		16/7										21	9				30			154		48,3
		17/7											14	18	19		51					
		19/7											31	43	146		220					
											12	27	54	61	165			319				

-. TABLEAU 20 (Suite) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	STADES 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Anor.	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
V 208	7e jour	23/8								7	9	17					33		33		15,2	
		26/8										1	2	6	28		37			42		19,3
		27/8													147		147					
										7	9	18	2	6	175			217				
V 211	7e jour	26/7				1		3	9								13		55		34,3	
		27/7				1	8	4	6	11							30			55		34,3
		1/8							3	1	1	7					12					
		3/8													105		105					
						2	8	7	18	12	1	7						160				
N 66	7e jour	28/7													171	13	184		0		0	
															171	13		184		13		7,1
V 127	8e jour	17/6					3	1									4		25		14,8	
		22/6										2	13	5		1	21			35		20,8
		24/6										4	3		103	2	112					
		25/6											1		30		30					
							3	1				6	17	5	133	3		168				
X 28	8e jour	15/6							1	4							5		5		2,6	
		19/6													22	3	25			34		17,8
		20/6											1	1	135	24	161					
									1	4			1	1	157	27		191				
V 91	9e jour	8/7					6	23								4		33	33		22,4	
		15/7													114		114			33		22,4
							6	23							114	4		147				
V 217	9e jour	27/7						183									183		356		73,7	
		28/7					1	22	96	54							173			358		74,0
		1/8							1	1					125		127					
							1	205	97	55					125			483				
N 64	9e jour	21/7						1	13	6							20		20		6,8	
		26/7										1			98	174	273			193		61,5
								1	13	6		1			98	174		293				
N 86	9e jour	2/7										7	18				25		25		7,8	
		4/7											1	192	101		294			103		32,3
												7	19	192	101			319				
N 87	9e jour	4/7										3	16	32	135				0		0	
																		186		51		27,4

-. TABLEAU 20 (Suite) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Anor	Tp	Tg	Te	Ta	%e	%a
N 101	9e jour	1/8						4									4		73		34,1	
		3/8							47*								47			123		57,5
		4/8							9*	13*							22					
		8/8									1*	2	4	21	28	5	71					
		10/8													63	7	70					
								4	56	13	1	2	4	21	91	12		214				
X 18	9e jour	10/6					1*	3									4		39		17,3	
		12/6						1*	2	7							10			43		19,1
		15/6									2*	11	6			6	25					
		17/6													182	4	186					
							1	4	2	7	2	11	6		182	10		225				
X 19	9e jour	15/6										3	11				14		14		14,1	
		17/6													82		82			14		14,1
																		96				
V 166	10e jour	2/8					4	26	47								77		123		29,8	
		6/8									2	14	30				46			123		29,8
		8/8													24		24					
		10/8													266		266					
							4	26	47		2	14	30		290			413				
V 170	10e jour	2/8						6									6		81		34,0	
		4/8		1*				2	2*	4*							9			111		46,7
		6/8								4	11	7					22					
		7/8							1	3	9	14	5				32					
		8/8									1	3	2	6			12					
		9/8										10	9	11	127		157					
				1				8	3	11	21	34	16	17	127			238				
V 179	10e jour	4/8						2	7	35							44		44		7,6	
		10/8											32	57	402	44	535			177		30,6
																		579				
N 77	10e jour	28/7					1	7	16								24		24		14,5	
		3/8										2	16	21	102		141			63		38,1
																		165				
N 85	10e jour	29/7						11*									11		163		45,7	
		30/7						11*		4*	7*	24*	20*	71		15	152			279		78,4
		2/8								1	3*	7*	15*	15*	26	7	74					
		3/8									2*	18*	11*		13	3	47					
		4/8											17	10	21	5	53					
		5/8													17	2	19					
								22		5	12	49	63	96	77	32		356				

-. TABLEAU 20 (Suite) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Anor	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
N 94	10e jour	27/7					2	11									13		67		17;6	
		28/7					1	16	7								24			69		17,8
		2/8							1*	1*	3*	19*	6*				30					
		4/8							1*	1*					311*		313					
							3	27	9	2	3	19	6		311			380				
V 81	11e jour	3/7				1	7										8		32		9,7	
		8/7								4	5	15					24			75		22,8
		11/7										3	16	24	17		60					
		12/7													28		28					
		13/7													208		208					
						1	7			4	5	18	16	24	253			328				
V 132	11e jour	23/8													269	49	318		0		0	
		24/8													22	7	29			56		16,1
															291	56		347				
C 153	11e jour	11/7						12									12		66		25,7	
		12/7						17		13							30			119		47,5
		14/7						6		18							24					
		16/7						1	1	1	1	12	7		116		139					
		17/7									5	4	8	13	21		51					
								36	1	32	6	16	15	13	137			256				
V 126	11e jour	15/7						3								2			5		1,3	
		21/7									2	8	4	13	24	19	70			236		63,2
		22/7									7	27	35	14	107	69	259					
		24/7										1			6	32	39					
								3			9	36	39	27	137	122		373				
N 83	11e jour	28/7									12	6				1	19		45		35,1	
		30/7									1	14	9			2	26			45		35,1
		2/8													83		83					
											13	20	9		83	3		128				
X 24	11e jour	8/6					12									31	43		216		92,3	
		9/6						17								147	164			220		94
		10/6						2*	1							6	9					
		15/6													14	4	18					
							12	19	1						14	188		234				
T 5	11e jour	12/7					1	3	13							15	32		32		37,7	
		18/7											3	2	5		10			44		51,8
		19/7												4	30	1	35					
		21/7												1	6	1	8					
							1	3	13				3	7	41	17		85				

-. TABLEAU 20 (Suite) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	Stades													Anor	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
			9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21							
V 60	12e jour	1/7						1	12	18	16	2					49		74		23,4	
		2/7									11	14					25			136		43,1
		4/7									7	5	16	34	152		214					
		6/7													28		28					
								1	12	18	34	21	16	34	180			316				
V 72	12e jour	5/7											27*	33*			60		60		17,5	
		6/7													149	45	194			107		31,2
		7/7													87*	2	89					
													27	33	236	47		343				
V 141	12e jour	16/7					2	11	1								14		136		68,0	
		17/7					3	3	8	7	11						32			194		96,9
		19/7						1	1	3	17	21	13				56					
		20/7							1	6	5	18	4				34					
		21/7										1	23	34	6		64					
							5	15	11	16	33	40	40	34	6			200				
V 232	12e jour	28/7	3*	13*	5*	12*	6*	17*								7	63		255		57,4	
		29/7						76*								2	78			381		85,8
		30/7						10*	9*	4*							23					
		31/7						3*	3*	1*							7					
		1/8						27*	17*	40*							84					
		2/8													1	32	33					
		3/8													62	94	156					
			3	13	5	12	6	133	29	45					63	135		444				
V 218	12e jour	24/7					12	19									31		31		4,6	
		29/7													647		647			31		4,6
																		678				
X 21	12e jour	8/6					1	3	1								5		39		23,9	
		9/6					1	1	5								7			42		25,7
		10/6						1	2	14						2	19					
		12/6							1*	1*	3	3					8					
		14/6													121	3	124					
							2	5	9	15	3	3			121	3		163				
X 65	12e jour	26/6						2	1	5	7	2				8	25		25		10,5	
		30/6										3	7	23	13	5	51			106		44,5
		31/6										1	11	19	102	2	135					
		1/7											1	5	17	4	27					
								2	1	5	7	6	19	47	132	19		238				

-. TABLEAU 20 (Suite) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	Stades													Anor	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
			9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21							
N 102	13e jour	30/7							6							2	8		248		89,5	
		1/8									15*	117*				82	214			262		94,6
		2/8										2*	13*				15					
		4/8											1*	9*		1	11					
		5/8												4*	11*	1	16					
		8/8												1*	3*	3	7					
		11/8													1*	5	6					
									6		15	119	14	14	15	94		277				
X 76	13e jour	7/8							134							29	163		251		87,8	
		8/8							7			4				51	55			259		90,5
		9/8										1	3	2		7	13					
		10/8										1	2	6		11	20					
		11/8											1	3	27	4	35					
									141			6	6	11	27	102		286				
V 184	14e jour	4/8								4						7	11		25		17,8	
		6/8										12				2	14			53		37,9
		7/8									1		12		16		29					
		8/8										2*	11*		71	2	86					
										4	1	14	23		87	11		140				
V 206	14e jour	17/8								10	8						18		121		48,6	
		18/8										63	30	2		8	103			206		82,7
		19/8									5	24	26	15	43	15	128					
										10	13	87	56	17	43	23		249				
X 70	14e jour	25/7								2						9	11		29		12,3	
		26/7								1	17						18			29		12,3
		29/7													207		207					
										3	17				207	9		236				
X 83	14e jour	8/8								76						23	99		117		57,6	
		9/8									1	14	2	1			18			175		86,3
		12/8									21	17*	4*	3	28	13	86					
										76	22	31	6	4	28	36		203				
V 140	15e jour	14/7							2*								2		79		39,9	
		16/7									1		2	2			5			103		52,1
		17/7								1	1	2	1				5					
		18/7								2	5	13	22	25			67					
		19/7									2		8		30		60					
		20/7												11	41	1	53					
		21/7												1	4	1	6					
									2	3	9	15	33	39	95	2		198				

-. TABLEAU 20 (Suite) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	date d'émission des emb	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Ano	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
V 177	15e jour	2/8									8		11				19		19		12,9	
		4/8													18	2	20			22		15,0
		5/8													107	1	108					
											8		11		125	3		147				
V 215	15e jour	24/8								2	33	29					64		134		29,9	
		25/8								1	1	4	42				48			291		65,0
		26/8									1	1	20				22					
		28/8								1	5	14	36	94	154		304					
		29/8										4	3		3		10					
																		448				
V 233	15e jour	24/8								69							69		338		69,5	
		25/8								6							6			433		89,0
		26/8								1*							1					
		28/8								28	219*	9	2	4			262					
		29/8								1	3	4*	37*	23*	41*	4	113					
		30/8									1*		8*	5*	12	9	35					
										105	223	13	47	32	53	13		486				
N 84	15e jour	20/7									2	11					13		13		6,4	
		24/7													186	5	191			18		8,8
																		204				
V 214	16e jour	24/8										8					8		42		6,2	
		25/8										9	19	6			34			65		9,1
		26/8										1		13	4		18					
		27/8													66	3	69					
		28/8													539	6	545					
												18	19	19	609	9		674				
N 60	16e jour	23/6										11		10	38	50			0		0	
																		109		71		65,0
X 80	16e jour	8/8										2	2				4		15		9,2	
		9/8										1	3	7			11			42		25,7
		10/8										5		3*	121	19	148					
												8	5	10	121	19		163				
V 212	17e jour	23/8									9	3*	22				34		34		4,9	
		24/8											1	9			10			146		21,0
		25/8										4	13	5			29					
		26/8									1	3*		78			82					
		27/8									1	1		456		79	539					
											11	10	46	548		79		674				

-. TABLEAU 20 (Fin) .-

Nom	Hypophysectomisé le :	Date d'émission des emb.	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	Anor.	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
V 71	18e jour	30/6											5	13			18		18		4,4	
		1/7											2	7	11		20			94		22,7
		2/7											1	6	7		14					
		3/7											3	2	35	1	41					
		4/7												17	22	5	34					
		5/7												20	157	10	187					
		6/7													87	2	89					
													11	65	319	18		413				
V 77	18e jour	30/6											12	15			27		27		15,9	
		1/7												7	21	1	29			40		23,5
		2/7												4	33		37					
		3/7													54	1	55					
		4/7													22		22					
													12	26	130	2		170				
V 213	19e jour	21/8												42			42		42		5,3	
		23/8												190	249		439			259		32,9
		24/8												20	269		289					
		25/8												7	10		17					
														259	528			787				

ACTION DE L'HYPOPHYSECTOMIE SUR L'INCUBATION DE L'HIPPOCAMPE

Etude détaillée de la progéniture de quelques individus

Anor. : embryons monstrueux dont il est impossible de reconnaître le stade
Tp : total partiel ; Tg : total général ; Te : nombre total des embryons expulsés ; Ta : nombre total des embryons anormaux ; 21* : 21 embryons anormaux.

ont présenté des troubles de l'incubation le 14e jour ou plus tard et 2 seulement (3 %) les ont présentés à une époque un peu plus précoce.

Or, c'est au 12e-13e jour que débute le grand et brutal accroissement du volume du marsupium ; c'est donc au cours de ce processus et sans doute en liaison avec lui qu'apparaissent les parturitions partielles prématurées.

Ainsi, en première analyse, nous sommes amenés à distinguer deux périodes bien distinctes de part et d'autre du 14e jour de l'incubation, du 1er au 13e jour et du 14e au 21e.

Si l'on considère les délais de réaction à l'hypophysectomie, on constate les faits suivants : (tableau 21)

Répartition des individus en fonction de la date de l'hypophysectomie et du délai d'extériorisation des premiers troubles de l'incubation.

Hypophysectomie entre les :	t	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	T	% T
	1er - 8e j.						2	1	1	3	1	5	2	1	2	2	4	3	2		2	31	80
	9e - 12e j.	1	2	6	7	10	8	5	1		3		1									44	82
	13e - 15e j.		3	7	3	5	8	1	1													28	92
	16e - 21e j.	10	2	7	1	1																21	90

t = temps (jours) entre l'hypophysectomie et la première manifestation de troubles de l'incubation.

-. TABLEAU 21 .-

a) Si l'intervention est pratiquée entre le 1er et le 8e jour de l'incubation ses effets ne se manifestent jamais avant un délai de 6 jours et se continuent à peu près également pendant les jours suivants ; 80 % des réactions se manifestent entre le 9e et le 18e jour suivant l'opération.

b) Pratiquée entre les 9e et 12e jour, l'opération manifeste ses effets après un délai de 1 à 12 jours, mais en général entre le 3e et le 7e jour suivant l'opération.

c) Si l'hypophysectomie est réalisée entre le 13e et le

et le 15e jour, les réactions apparaissent après un délai de 2 à 8 jours, mais très généralement entre le 2e et le 6e jour suivant l'intervention.

d) Enfin, si elle a lieu entre le 16e et le 21e jour, ses effets, lorsqu'il y en a, se manifestent entre le 1er et le 2e jour suivant l'opération .

L'hypophysectomie a donc des effets assez nettement différents selon qu'elle est pratiquée :

- entre le 1er et le 8e jour de l'incubation
- entre le 9e et le 12e jour de l'incubation
- entre le 13e et le 15e jour de l'incubation
- entre le 16e et le 21e jour de l'incubation.

Jour de l'opération	Nombre d'opérés.	Individus présentant des : Parturitions partielles prématurées : p.p.p.		Parturitions anormales : N*		Parturitions normales : N	
		nombre	%	nombre	%	nombre	%
1 - 8	31	22	71	9	29	0	0
9 - 12	44	42	95	2	5	0	0
13 - 15	28	21	75	7	25	0	0
16 - 21	48	16	33	10	21	22	46
T :	151						

-. TABLEAU 22 .-

Le tableau 22 résume les résultats généraux des hypophysectomies pratiquées à ces 4 époques : il indique le nombre d'individus et leur pourcentage par rapport au nombre d'opérés de la même catégorie,

- manifestant des parturitions partielles prématurées avant le 21e jour (p.p.p.);
- extériorisant des troubles uniquement à partir du 21e jour (N^*),
- aboutissant à des parturitions normales (N).

Il en ressort que 100 % des animaux opérés entre le 1er et le 15e jour manifestent des troubles de l'incubation consécutifs à l'ablation de l'hypophyse. Opérés après le 15e jour, seulement la moitié environ

des individus présentent une réaction, les autres mènent à son terme une incubation qui reste normale.

En admettant que les parturitions partielles prématurées représentent une réaction forte à l'ablation de l'hypophyse, il apparaît curieusement que, dans l'ensemble, les animaux sont moins sensibles au début de l'incubation (71 % de p. p. p.) qu'entre le 9e et le 12e jour (95 %) et le sont de moins en moins par la suite : 75 % du 13e au 15e jour, 33 % du 16e au 21e . Nous tenterons plus loin d'expliquer ce phénomène (voir page 229).

2°) Etude des progénitures(tableau 23). -

J'ai étudié en détail les progénitures de 62 hypophyséoprives répartis dans les 4 groupes définis ci-dessus. Les résultats généraux sont résumés dans le tableau 23.

Jour de l'opération	Nombre d'opérés.	Nombre total d'embryons incubés	Embryons expulsés avant le 21e jour		Embryons anormaux		Alevins normaux	
			nombre	%	nombre	%	nombre	%
1 - 8	16	3548	392	11,04	763	21,50	2785	78,50
9 - 12	28	8227	2078	25,25	3534	42,15	4693	57,05
13 - 15	11	2874	1374	47,80	1851	64,40	1023	35,60
16 - 21	7	2901	178	6,13	717	24,71	2184	75,29
Total	62	17550	4022	22,91	6865	39,11	10 685	60,89

-. TABLEAU 23 .-

J'ai compté(tableau 23) pour chaque groupe d'opérés le nombre total des embryons incubés, le nombre et le pourcentage par rapport au nombre total des embryons incubés:des embryons expulsés avant le 21e jour, des embryons et alevins anormaux, des alevins normaux.; on constate que :

1°) Globalement sur 17550 embryons incubés, 61 % atteignent normalement la parturition, 39 % ont un développement embryonnaire troublé peu ou prou et sur ceux-ci 28 % (moins du quart des embryons incubés au total) sont expulsés avant la fin de l'incubation.

2°) Les résultats considérés non plus globalement, mais ventilés selon l'époque de l'intervention se présentent de manière très différente :

a) La sensibilité à l'hypophysectomie mesurée par la proportion des embryons anormaux et prématurés augmente de la 1ère époque à la 3e et devient minime à la dernière,

b) Si l'on rapproche ces résultats de ceux résumés dans le tableau 22 on voit que les résultats sont apparemment différents :

- opérés entre les 1er et 8e jours, 71 % des animaux présentent des parturitions prématurées et n'expulsent que 11 % des embryons.
- opérés entre les 9e et 12e jours, 95 % des animaux expulsent 25 % d'embryons,
- opérés entre les 13e et 15e jours, 75 % des mâles expulsent 48 % d'embryons,
- opérés entre les 16e et 21e jour, 33 % des animaux expulsent 6 % d'embryons.

Il n'y a donc pas coïncidence entre la fréquence des parturitions partielles prématurées et leur rendement d'une part, non plus qu'entre cette fréquence et le taux d'embryons anormaux d'autre part. Cela suggère que les expulsions et les anomalies résultent de facteurs concomitants relativement indépendants.

jour de l'opération	1		2		3		4		5		N*		Nombre total d'opérés.
	nbre	%	nbre	%	nbre	%	nbre	%	nbre	%	nbre	%	
1 - 8	6	19,3	13	41,9	2	6,4	-	-	1	3,4	9	29,0	31
9 - 12	13	29,5	12	27,3	10	22,7	6	13,6	1	2,4	2	4,5	44
13 - 15	3	10,7	7	25,0	6	21,4	2	7,2	-	-	10	35,7	28
16 - 21	4	19,0	3	14,3	-	-	-	-	-	-	14	66,7	21
Total	26	20,9	35	28,2	18	14,5	8	6,4	2	1,8	35	28,2	124

-. TABLEAU 24 .-

Le tableau 24 page 169 montre le nombre (et le pourcentage par rapport au nombre total d'Hippocampes opérés dans chaque groupe) d'individus ayant montré soit 1, 2, 3, 4, 5 parturitions partielles prématurées ou au contraire une seule parturition anormale (N^*), où les alevins sont émis, mêlés à des embryons plus ou moins anormaux.

Au total, sur 100 animaux hypophysectomisés : 21 avorteront 1 fois ; 28 : 2 fois ; 15 : 3 fois ; 6 : 4 fois ; 2 : 5 fois ; 28 maintiendront l'incubation jusqu'au 21e jour (sans avortement).

Là aussi, il existe des différences sensibles entre les différents groupes.

1er - 8e jour : 70 % des animaux avortent 1, 2, 3 ou 5 fois (respectivement 20, 41, 6 et 3 %) ; 30 % n'avorteront pas.

9e - 12e jour : 91 % avortent 1, 2, 3, 4 fois (respectivement 29, 27, 22 13 %) ; 5 % n'avorteront pas.

13e - 15e jour : 63 % avortent 1, 2, 3, 4 fois (respectivement 10, 25, 21 7 %) ; 36 % n'avortent pas.

16e - 21e jour : 33 % avortent 1 ou 2 fois (respectivement 19, 14 %) ; 67 % n'avortent pas.

Les parturitions partielles prématurées sont les plus nombreuses chez les animaux opérés entre les 9e et 12e jour, nettement moins chez ceux opérés entre le 1er et le 8e jour, un peu moins chez les opérés entre le 13e et le 15e jour, peu par la suite.

Autrement dit, l'ablation de l'hypophyse déclenche peu de parturitions partielles prématurées au début de l'incubation, beaucoup au milieu, peu à la fin. Il est donc certain que le contrôle hypophysaire de l'incubation varie, au cours de l'incubation.

En conclusion :

f) Les réponses à l'hypophysectomie varient au cours de l'incubation ; on peut distinguer 4 groupes successifs de réponses significatives :

1er - 8e jour : Effet relativement peu important. Si 100 % des animaux montrent des troubles, ceux-ci sont réduits tant pour le nombre des parturitions partielles prématurées que pour le nombre des embryons anormaux.

9e - 12e jour : La sensibilité à l'hypophysectomie a augmenté par rapport à la catégorie précédente, les parturitions partielles prématurées sont très nombreuses, le taux des anormaux devient important. Pratiquement aucun animal n'amène l'incubation à son terme sans parturition partielle prématurée.

13e - 15e jour : La sensibilité à l'hypophysectomie est majeure. Malgré une diminution sensible des parturitions partielles prématurées et une augmentation très sensible des parturitions anormales, le nombre des anormaux est très important (les deux tiers des embryons incubés).

16e - 21e jour : La sensibilité à l'hypophysectomie est faible, la moitié des animaux ne réagissent pas à l'opération, le nombre des parturitions partielles prématurées est très réduit, celui des parturitions anormales très grand, celui des embryons anormaux devient faible.

2°) Les deux effets de l'hypophysectomie : apparition de parturitions partielles prématurées et anomalies du développement embryonnaire ne varient pas, suivant la date de l'opération, de façon concordante ; cela suggère que le contrôle de l'incubation obéit à des facteurs concomitants, peut être synergiques dont l'action peut être en partie dissociée suivant la date de l'intervention.

Ces conclusions générales négligent l'existence de très grandes variations individuelles qui cependant méritent de retenir l'attention.

La réaction à l'hypophysectomie d'un mâle en cours d'incubation est l'exemple d'un phénomène idiosyncrasique résultant de facteurs multiples individuels dont l'analyse, la définition et l'importance relative sont presque impossibles à préciser.

Il en ressort cependant un certain nombre de faits importants :

1°) Quelle que soit la date de l'intervention, celle-ci n'empêchera pas qu'un nombre important -et souvent très important- d'embryons accomplira un développement normal. Si l'hypophysectomie perturbe les phénomènes qui régissent le contrôle normal de l'incubation, il se trouve donc toujours des animaux qui échapperont à cette perturbation.

2°) D'une manière générale, le développement embryonnaire, même perturbé se continue d'une parturition partielle prématurée à l'autre : les embryons expulsés, normaux ou non sont, dans l'ensemble, toujours plus âgés

qu'à l'émission précédente. Il existe donc une relative indépendance entre l'embryon et le père : même si le milieu dans lequel le développement embryonnaire se fait est perturbé, ce développement embryonnaire n'est jamais arrêté .

3°) Le "rendement" des parturitions partielles prématurées est extrêmement variable, celles-ci pouvant aboutir à l'émission aussi bien d'un seul que de plusieurs centaines d'individus. Ce "rendement"cependant est en général faible par rapport au nombre total des incubés. Très souvent, le nombre des embryons émis dans des parturitions partielles prématurées successives augmente de l'une à la suivante. Il semble que l'avortement, une fois enclenché, ait tendance à s'accentuer , une première parturition partielle prématurée rendant plus facile une seconde et augmentant sans doute l'étendue des perturbations internes.

On peut essayer de voir si dans chaque catégorie il n'existe pas à l'intérieur du type général de réponse défini ci-dessous, des groupements d'individus présentant des ressemblances plus étroites dans leur réaction à l'hypophysectomie.

Les éléments qu'on peut essayer de comparer d'un individu à l'autre sont : le délai de réponse à l'intervention, c'est-à-dire le nombre de jours qui s'écoulent entre l'opération et la première manifestation d'un trouble apporté à l'incubation ; le pourcentage des embryons anormaux, des embryons expulsés, des embryons monstrueux ; le stade le plus précoce se trouvant dans la première expulsion ; le nombre des parturitions partielles prématurées et le jour de l'opération. Les résultats de ces comparaisons sont résumés dans les tableaux suivants :

A./. - <u>1er GROUPE : opération entre le 1er et le 8e jour</u> (tableau 25, p. 173). -

On peut distinguer deux types de réponses :

1°) Animaux présentant peu de parturitions partielles prématurées (de 0 à 2), libérant après un long délai peu d'anormaux, très peu d'embryons monstrueux, les premiers expulsés étant le plus souvent à un stade de développe-

ment avancé (17 à 21). Ces phénomènes représentent la limite inférieure d'action de l'hypophysectomie.

Délai de réponse à l'hypophysectomie (en jours)	Délai compris entre 12 et 19 jours	Délai compris entre 6 et 17 jours
% anormaux	inférieur à 12 %	compris entre 20 et 50 %
% monstrueux	inférieur à 2 %	compris entre 2 et 5 %
Stade le plus précoce expulsé	14 - 21	10 - 17
Nombre de parturitions part. prém.	0 - 2	1 - 5
Jour de l'opération	1 - 7	1 - 8
Individus	N 62 - N 66 - X 31 - X 27 V 85	V 86 - V 88 - V 135 - V 211 V 127 - V 9 - N 78 - X 6 - X 22 X 26

-. TABLEAU 25 .-

2°) Animaux présentant de 1 à 5 parturitions partielles prématurées, libérant assez vite des embryons souvent précoces (stades de développement oscillant autour des stades 13-14), anormaux et monstrueux nettement plus nombreux que le groupe précédent.

Les deux types de réponses sont également fréquents.

B./. - 2e GROUPE : opération entre les 9e et 12e jour (tableau 26). -

De la même façon, nous pouvons mettre en évidence des types de réactions différents à l'intérieur du 2e groupe.

Délai de réponse à l'hypophysectomie (en jours)	Supérieur ou égal à 10 jours	Délai compris entre 2 et 6 jours	Délai compris entre 2 et 7 jours	Délai compris entre 2 et 10 jours
% anormaux	Inférieur ou égal à 30 %	Inférieur ou égal à 30 %	Compris entre 30 et 40 %	Supérieur à 50 %
% monstrueux	0	Inférieur à 3 %	Inférieur à 3 %	Supérieur à 10 %
Stade le plus précoce expulsé	18	13 - 14	13 - 14	13 - 14
Nbre de part. part. prém.	1 - 0	1 - 4	1 - 4	0 - 4
Jour de l'opération	9	9 - 12	9 - 12	9 - 12
Individus	N 86 - N 87 - X 19	V 91 - V 218 - V 266 - V 81 - N 64 - X 21	V 217 - V 170 - V 60 - N 77 - N 83 C 153	V 179 - V 132 - V 126 V 72 - V 141 - V 232 N 101 - N 94 - N 85 X 18 - X 24 - X 65

-. TABLEAU 26 .-

1er type : ce sont les animaux faisant la jonction avec le groupe précédent. Tous opérés le 9e jour, ils ne manifestent des troubles qu'après 10 jours ou plus ; ces troubles sont relativement faibles, pas d'embryons monstrueux, le stade embryonnaire à la première émission est tardif et très peu retardé par rapport à la normale, une seule ou aucune parturition partielle prématurée avant le part.

2e type : la réaction à l'hypophysectomie est plus rapide, elle se situe entre le 2e et le 6e jour. Il apparaît moins de 30 % d'anormaux, moins de 3 % d'embryons monstrueux, le 1er stade émis au cours desl à 4 parturitions partielles prématurées est le stade 13.

3e type : Il est caractérisé de la même façon que le type précédent, mais s'en distingue par une augmentation sensible des anormaux dont le pourcentage oscille entre 30 et 50 %.

4e type : la sensibilité à l'hypophysectomie est encore accrue, se traduisant par l'augmentation soit du taux des anormaux (plus de 50 %), soit de celui des embryons monstrueux (plus de 10 %), le plus souvent au niveau des deux.

Les 2e, 3e et 4e types desensibilité sont également fréquents.

C./. - 3e GROUPE : opération entre le 13e et le 15e jour (tableau 27). -

Délai de réponse à l'hypophysectomie (en jours)	Délai compris entre 3 et 4 jours	Délai compris entre 2 et 3 jours	Délai compris entre 2 et 5 jours
% anormaux	Inférieur ou égal à 15 %	Compris entre 30 et 50 %	Compris entre 65 et 90 %
% monstrueux	Inférieur à 5 %	Inférieur à 10 %	Inférieur à 10 %
Stade le plus précoce expulsé	16 - 17	15 - 16	15 - 16
Nbre de part. part. prém.	1 - 2	3	3 - 4
Jour de l'opération	14 - 15	14 - 15	14 - 15
Individus	X 70 - V 177 - N 84	V 184 - V 140	X 76 - X 83 - V 206 - V 215 - V 233

-. TABLEAU 27 .-

Les résultats sont comparables aux précédents. On peut reconnaître 3 types de réponses différents également fréquents entre les 13e et 15e jours.

D./. - 4e GROUPE : opération entre le 16e et le 21e jour. -

Ici les résultats de l'hypophysectomie donnent des réponses très homogènes. Tous les animaux qui réagissent (54 %) le font dans des conditions sensiblement identiques.

En conclusion, il apparaît nettement qu'après une intervention pratiquée entre le 1er et le 15e jour de l'incubation les opérés manifestent des différences individuelles qui ne sont pas quelconques, mais qui correspondent à une gamme de 2 ou 3 degrés différents d'une sensibilité dont rien ne nous permet de mieux définir la nature.

Action de l'hypophysectomie sur la parturition à terme.-

Chez les témoins la parturition ne dure que quelques heures de nuit en général, l'émission des alevins ne se prolongeant jamais au delà de 24 heures. En revanche chez une partie des opérés l'hypophysectomie déclenche des troubles variés de la parturition qui se traduisent tout d'abord par un allongement du temps d'émission des alevins qui dure 2, 3, 4 jours ou même davantage (N, N...) ; en outre, il peut se superposer à cet allongement du part l'apparition de parturitions anormales (N^*) où les alevins émis sont mêlés à des embryons ; les parturitions anormales peuvent être uniques et suivies d'une ou plusieurs parturitions normales (N^*, N...) ou au contraire se succéder pendant plusieurs jours (N^*, N^*...)

Le tableau 28, page 176 résume, suivant le jour de l'intervention, le nombre total et le pourcentage de mâles présentant des parturitions anormales, et leur répartition dans les catégories définies ci-dessus (N N.., N^*N..., N^*N^*...).

Jour de l'opération	Nombre d'opérés	Individus présentant des parturitions prolongées		Répartition suivant les types de parturitions prolongées.		
		nombre	%	N N...	N* N...	N*N*...
1 - 8	31	5	16	-	2	3
9 - 12	44	13	30	5	2	6
13 - 15	28	9	32	2	-	7
16 - 21	48	17	35	5	4	8

-. TABLEAU 28 .-

Il est difficile de comprendre comment une partie seulement -et relativement faible- des animaux présente des troubles alors que l'autre partie n'en présente pas.

On peut sans doute mettre à part les cas où la parturition normale se prolonge pendant plusieurs jours. En effet, l'expulsion des jeunes est un phénomène où le père prend une part active (FIEDLER, 1954) par des mouvements variés, notamment en comprimant le fond du marsupium contre le support où il est fixé. Les hypophyséoprives étant nettement apathiques ou asthéniques, leur activité est très réduite et l'on peut lier à l'absence d'aide paternelle l'allongement de la parturition.

Les problèmes posés par les cas où l'apparition de parturitions anormales se superpose à un allongement du part sont plus intéressants mais délicats à interpréter. L'hypophysectomie ralentit le développement d'une partie des embryons et dans ce cas, au lieu d'une parturition unique et exhaustive, il y a plusieurs parturitions successives dans l'intervalle desquelles le développement embryonnaire se poursuit, pour parfois se terminer et aboutir à des parturitions finales de type normal.

Cependant parfois, il est trop perturbé et même en se prolongeant au delà du délai normal de 21 jours, il aboutit à un mélange d'alevins et d'embryons diversement conformés. Il se confirme ainsi que le développement embryonnaire est sous la dépendance des structures enveloppant l'embryon et soumis à un contrôle hormonal et au moins partiellement hypophysaire.

RESULTATS GENERAUX DES EXPERIENCES D'HYPOPHYSECTOMIE. -

L'étude des résultats obtenus nous permet de tirer les conclusions suivantes :

- Si l'opération est pratiquée suffisamment tôt, tous les Hippocampes manifestent des troubles de l'incubation. Donc au moins jusqu'à une certaine date (15e jour), l'hypophyse contrôle le maintien et le déroulement de l'incubation.

- Bien que l'hypophysectomie trouble toujours l'incubation, un nombre important, parfois très important, des embryons échappent à ces troubles et réalisent un développement embryonnaire normal.

- On peut penser que les structures conditionnant le développement à l'intérieur du marsupium ne sont pas également touchées par l'hypophysectomie, leur maintien ou leur atteinte dépend sans doute de leur situation à l'intérieur du marsupium (l'étude du liquide périembryonnaire d'embryons anormaux fournira un argument en faveur de cette hypothèse)(voir page 304).

- Les animaux sont inégalement sensibles selon la date de l'opération, leur sensibilité est faible du 1er au 8e jour, plus forte du 9e au 12e, davantage encore du 13e au 15e, réduite du 16e au 21e. Les types de réponse, varient d'une catégorie à l'autre.

- Les sensibilités individuelles des Hippocampes sont extrêmement variables sans que l'on puisse davantage préciser la nature de ces différences physiologiques.

- L'extrême variabilité des troubles manifestés par les embryons incubés montre d'une part combien le développement embryonnaire est lié au milieu interne du marsupium, mais aussi combien il lui échappe. Le développement embryonnaire n'est jamais arrêté, même ralenti ou gravement perturbé il se continue jusqu'à l'expulsion de l'embryon.

Enfin la relative indépendance des parturitions partielles prématurées et des anomalies embryonnaires provoquées, ainsi que la variabilité

des résultats suivant l'époque de l'intervention et selon les individus, suggèrent que le contrôle hormonal de l'incubation doit être un phénomène complexe de corrélations ou synergies hormonales.

III. - ACTION DES HORMONES GONADIQUES. -

A./. - PROTOCOLE EXPERIMENTAL. -

Des mâles en incubation depuis 5 à 18 jours, soit normaux, soit hypophysectomisés, soit castrés, ont été soumis à des traitements hormonaux résumés par le tableau 29.

Traitement	Nature des mâles incubants	Nombre de mâles traités	Dose par injection.	Rythme du traitement	Dose totale injectée = Q
Testostérone (propionate)	Normaux	10	1 250 µg	1 inj. ts les 4 jours	1250 ≤ Q ≤ 6250 µg
	Hypophysectomisés	11	1 250 µg	"	1250 ≤ Q ≤ 3750 µg
	Castrés	4	1250 µg	"	
Œstradiol (benzoate)	Normaux	9	25 µg	1 inj. ts les 3 jours	25 ≤ Q ≤ 150 µg
	Hypophysectomisés	7	25 µg	"	25 ≤ Q ≤ 100 µg
	Castrés	4	25 µg	"	25 ≤ Q ≤ 125 µg
Progestérone	Normaux	8	250 µg	1 inj. ts les 3 jours	250 ≤ Q ≤ 1000 µg
	Hypophysectomisés	8	250 µg	"	250 ≤ Q ≤ 1250 µg
	Castrés	2	250 µg	"	250 ≤ Q ≤ 100 µg
Pregneninolone	Normaux	4	5 mg/l	Bain permanent	
	Castrés	1	5 mg/l	"	
	Total	68			

-. TABLEAU 29 .-

La quantité totale d'hormone injectée ou absorbée, est évidemment fonction du moment de l'incubation où débute l'expérimentation.

B./. - RESULTATS. -

1°) Action de la testostérone. -

a) Mâles normaux. -

Le tableau 30 page 179 résume les résultats : pratiquées avant le 14e jour de l'incubation, les injections de testostérone déclenchent

l'apparition de parturitions partielles prématurées avec retard et anomalies du développement. Au 21e jour, il y a libération d'alevins mêlés à des embryons, tous plus ou moins anormaux.

Nom	Jours de l'incubation																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
P 126				d											p	p					N*		
P 121						d											p		p	p	N*		N*
P 144								d											p		N*		
P 133												d						p		p	N*		
P 132													d				p	p	p		N*		
P 87														d							N	N	
P 143																d					N	N	
C 61																d					N		
P 141																	d				N		
P 86																	d				N		

d = début de traitement.

-. TABLEAU 30 .-

Pratiqué après le 14e jour, le traitement reste sans effet sur l'incubation qui se déroule normalement et aboutit à la libération de jeunes normaux.

Le tableau 31 analyse 2 de ces cas.

Nom	Date d'émission des embryons	STADES															An.	T p	T g	T e	T a	% e	% a
		9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21									
P 21	22/8						←	5*						→				5		45		7,7	
(Début du	24/8						←			8*				→				8			583		100
traitement :	25/8						←			11*				→				11					
6e jour)	26/8						←							21*		→		21					
	28/8							←		538*						→		538	583				
P 132	24/8							←	21*	→								21		42		9,8	
(Début du	25/8							←	7*	→								7			427		100
traitement:	26/8								←	14*		→						14					
6e jour)	28/8								←	385*						→		385	427				

←——→ Dispersion des stades représentés * Embryons anormaux

-. TABLEAU 31 .-

Les parturitions partielles prématurées sont relativement peu importantes et portent sur 8 et 9 % des embryons incubés ; en revanche, il n'y

a pas d'alevins ou d'embryons normaux ; les anomalies sont générales et portent sur une modification des différentes parties du corps, sur une réduction quelquefois très considérable de la taille et sur une résorption prématurée du vitellus. Par conséquent, les effets sont comparables à ceux de l'hypophysectomie et portent sur le maintien de l'incubation autant que sur le développement embryonnaire avec de notables différences cependant. Si dans l'ensemble les parturitions partielles prématurées sont moins fréquentes et à un rendement plus faible, le taux des anomalies est beaucoup plus fort et leur nature moins disparate et plus accusée.

b) Mâles hypophysectomisés. -

Nom	Jours de l'incubation																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
C 154						x	d								p				p		N*	N			
C 57							x	d				p			p		p			p	N*				
C 181									x	d			p					p			N*				
P 135										x	d			p	p	p		p			N*				
P 73												x	d								N*				N*
P 139 bis													x	d			p				N*				
P 73 bis														x	d				p	p	N*				
C 182															x	d					N				
C 132															x	d					N				
X 109																		x	d		N				
P 139																			x	d	N*				

x = jour de l'hypophysectomie d = début du traitement

-. TABLEAU 32 .-

Le tableau 32 résume les résultats. Jusqu'au 14e jour de l'incubation les injections de testostérone ne modifient pas les résultats obtenus par l'hypophysectomie simple. Il apparaît des parturitions partielles prématurées et au 21e jour il se manifeste des anomalies ou des retards chez les embryons et les alevins libérés. A partir du 15e jour, les injections restent sans effet notable, et donc n'accentuent pas l'action de l'hypophysectomie.

Le tableau 33 page 181 analyse quelques cas et permet de séparer deux types de résultats bien distincts :

Nom	Début du traitement	Date émission embryons	Stades 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21	An.	T p	T g	T e	T a	% a	% a
C 154	6e jour	18/7	1 3 1		5		13		7,7	
		22/7	1 1		2			13		7,7
		24/7	2 4		6					
		26/7	157		157	170				
C 181	7e jour	12/7	4*	1	7		20		5,0	
		17/7	3* 3 7		13			24		6,0
		20/7	1* 1* 1* 399	1	403	423				
P 135	10e jour	16/8	40* 14*	12	66		115		45,6	
		17/8	23*	1	24			252		100
		18/8	6* 5* 11* 2*	3	25					
		20/8	3* 7* 14* 11* 7* 88*	7	137	252				
P 73	12e jour	27/7	97*	16	113		0		0	
		31/7	149*	22	171	284		284	1	100
P 139bis	13e jour	27/8	8* 21* 46* 6*		81		0		0	
		31/8	11* 34* 66* 3* 3* 3* 3*		123	204		204		100

-. TABLEAU 33 .-

- Chez les animaux opérés entre le 6e et le 9e jour, on trouve très peu d'expulsés prématurément (5 à 8 %) et peu ou pas d'anormaux.

- Chez les animaux opérés entre le 10e et le 11e jour, tous les embryons sont anormaux et beaucoup sont expulsés prématurément (46 %) ; chez les opérés à partir du 12e jour, il n'y a plus d'embryons expulsés prématurément, mais tous les embryons sont anormaux.

On retrouve par conséquent des différences de sensibilité mises en évidence dans les conséquences de l'hypophysectomie. Il est à noter cependant que les injections de testostérone si efficaces chez les mâles normaux, ne renforcent pas l'action de l'hypophysectomie jusqu'au 6e jour, mais au contraire la diminuent légèrement ; en revanche à partir du 10-12e jour, elles la renforcent notablement tant en ce qui concerne le taux d'expulsion que le nombre d'anormaux.

Dans l'ensemble, les anomalies sont de deux sortes :

- soit freinage ou arrêt de la résorption du vitellus, tandis que l'embryon poursuit plus ou moins bien son évolution.

- soit accélération de la résorption du vitellus qui disparaît chez les embryons encore jeunes et qui en général entraîne un nanisme plus ou moins accentué, mais parfois très accentué.

Ces deux catégories d'embryons anormaux peuvent coexister bien qu'elles soient en général plutôt exclusives l'une de l'autre. La première apparaît surtout lorsque l'intervention se situe dans la première moitié de l'incubation, la seconde surtout lorsque l'hypophysectomie est pratiquée dans la deuxième moitié de l'incubation.

L'administration de propionate de testostérone à des mâles hypophyséoprives n'empêche donc pas l'apparition de troubles graves de l'incubation. Cela confirme le résultat déjà acquis par la castration : la testostérone ne joue aucun rôle dans le maintien normal de l'incubation.

Cependant, les résultats ne sont pas exactement superposables à ceux de l'hypophysectomie simple.

S'il se révèle des degrés de sensibilité différents selon l'époque, la testostérone semble minimiser les effets de l'hypophysectomie lorsque elle est administrée tôt, mais plutôt la renforcer par la suite, soit en augmentant le nombre des embryons expulsés prématurément, soit en augmentant le nombre des embryons et alevins anormaux.

c) Mâles castrés. -

Nom	Jours de l'incubation																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
P 67		x	d											p				p		p	N*	
P 68			x	d									p		p			p	p		N*	
P 109										x	d							p	p		N*	N*
P 111															x	d		p			N*	

x : jour de la castration d : début du traitement

-. TABLEAU 34 .-

Pratiquée avant le 16e jour de l'incubation, l'injection de testostérone à des mâles castrés déclenche l'apparition de troubles (parturitions partielles prématurées, retards et anomalies du développement).

Le tableau 35 analyse quelques cas .

Nom	Début du traitement	Date d'émission des emb.	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	An.	T p	T g	T e	T a	% e	% a
P 109	10e jour	25/7						3*	3*	1*	1*	2*	1*				11		61		21,4	
		26/7							7*	9*	2*	8*	13*	11*			50			285		100
		28/7									1*	3*	11*	14*	86*	27	142					
		29/7									3*	13*	24*	8*	3*	31	82	285				
P 111	15e jour	20/7								1*	2*	2*	1*			1	7		7		8,0	
		23/7								2*	1*	7*	10*	18*	41*	2	81	88		88		100

-. TABLEAU 35.-

Le taux d'expulsion est nettement augmenté par rapport à celui des mâles normaux traités de la même façon et la proportion des taux d'anormaux est de 100 %. Ici aussi les anomalies sont de deux types : soit retard de la résorption du vitellus chez une partie des embryons dont les proportions sont modifiées et la longueur diminuée, soit résorption anticipée amenant la formation d'animaux très petits ou nains.

En conclusion, alors que la castration reste sans effet sur le déroulement de l'incubation, celle-ci présente, après injection de testostérone à des castrats,des perturbations graves comparables à celles obtenues dans les mêmes conditions sur les mâles normaux. Les castrats se montrent dans l'ensemble plus sensibles et plus longtemps que les mâles normaux ; il est possible que cet accroissement de sensibilité soit dû à l'absence spécifique du testicule. L'injection de testostérone à des mâles normaux, ou castrés, ou hypophysectomisés, confirme les résultats de la castration simple. La testostérone ne joue aucun rôle dans le maintien de l'incubation. Bien mieux, elle entraîne des effets particulièrement nocifs puisque dans tous les cas, si elle

est administrée suffisamment tôt, elle déclenche des troubles graves de l'incubation tout à fait comparables à ceux obtenus par l'hypophysectomie simple, plus accentués dans l'ensemble toutefois. Nous essaierons d'établir plus loin par quel mécanisme.

2°) Action de l'œstradiol. -

a) Mâles normaux. -

Les résultats sont résumés dans le tableau 36.

Nom	Jours de l'incubation																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
P 118		d												p					p	N*	N*	N*
P 93								d											p		N*	N*
P 147								d											p		N*	N*
C 63												d									N*	
P 204														d							N	
P 205														d							N	
P 206																d					N	
P 207																	d				N	
P 208																		d			N	

d : début du traitement.

-. TABLEAU 36 .-

Jusqu'au 9e jour de l'incubation, les injections d'œstradiol déclenchent des troubles de l'incubation : parturitions partielles prématurées et apparition au 21e jour parmi les alevins d'embryons retardés normaux ou anormaux.

Entre le 9e et le 12e jour, malgré le peu de renseignements recueillis, les troubles apparaissent aussi, mais faibles et uniquement au 21e jour.

Après le 12e jour, les injections restent sans effet, les parturitions sont normales en tous points.

Le tableau 37 page 185 analyse des exemples détaillés de l'action de l'œstradiol sur l'incubation.

Nom	Début du traitement	Date d'émission des emb.	Stades 9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	An.	T_p	T_g	T_e	T_a	% e	% a
P 93	8e jour	14/7								2	1	3	4			6	16		45		15,4	
		16/7										3	5	5	11	5	29			208		71,5
		17/7										48	47	52	83	6	246	291				
P 147	8e jour	14/8							←	6*	→						6		11		4,6	
		16/8							←	5*	→						5			183		76,2
		17/8										52*	57	63	68		240	251				
C 63	12e jour												←	600	→			600				

←——→ dispersion des stades représentés * = embryons anormaux.

-. TABLEAU 37 .-

Le taux des embryons prématurément expulsés reste faible (compris entre 5 et 15 %), le taux des embryons dont le développement est retardé par rapport à la normale est fort (71 - 76 %), mais la proportion d'anormaux parmi ces embryons retardés est petite (moins de 10 %). L'effet est donc nettement différent de celui de la testostérone, se traduisant ici surtout par un retard embryonnaire, mais non par l'apparition d'anomalies fortes.

Les quelques individus (alevins ou embryons) anormaux trouvés dans la progéniture de ces mâles sont soit courts et massifs, soit nains, ou présentent un décalage entre leur âge morphologique et la résorption du vitellus qui semble retardée.

Il faut signaler aussi que les marsupiums des animaux traités à l'œstradiol deviennent énormes : leur volume au moment du part est considérablement plus grand que chez les mâles incubants normaux témoins.

En conclusion, sur des mâles normaux incubants l'action de l'œstradiol est indéniable et déclenche les troubles classiques de l'incubation, mais reste faible, tant par l'importance des expulsions d'embryons, que par les perturbations du développement embryonnaire. La taille atteinte par le marsupium au moment du part est remarquable.

b) Mâles hypophysectomisés. -

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 38.

Nom	Jours de l'incubation																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
C 155							x	d		p	p	p	p	p	p	p							
P 123										x	d			p		p					N*		
P 122												x	d						p		N*		N*
C 177														x	d						N*		
C 64																x	d				Nm		
X 110																	x	d			N		
X 111																	x	d			N		

x : jour de l'hypophysectomie d : début du traitement

-. TABLEAU 38 .-

Pratiquées sur des animaux opérés avant le 13e jour de l'incubation, les injections n'empêchent pas l'apparition des troubles classiques de l'incubation : parturitions partielles prématurées, libération au 21e jour d'alevins plus ou moins normaux mêlés à des embryons retardés ou anormaux.

Chez ceux opérés entre le 12e et le 16e jour, la parturition est menée jusqu'à son terme, mais une partie des alevins sont, soit très légèrement anormaux, soit morts.

Après le 16e jour les injections restent sans effet sur l'incubation et n'accentuent donc pas l'action de l'hypophysectomie. Le tableau 39 analyse quelques exemples de l'action du benzoate d'œstradiol sur la progéniture des hypophyséoprives.

Nom	Début du traitement	Date d'émission des embr.	Stades													An.	T p	T g	T e	T a	% e	% a
			9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21							
C 155	7e jour	13/7	←	31*	→		2*										33		246		100	
		14/7		←	8*	→										1	9			246		100
		15/7				1*	3*	2*	3*							2	11					
		16/7		2		2	24	18							2*	3	51					
		17/7						11	6							7	24					
		18/7								118							118	246				
P 122	12e jour	18/7						3*	2*	3*	7*	8*	2*			3	25		28		10,9	
		20/7							4*	3*	6*	11*	17*	18*	16*	5	80			139		54,1
		22/7								3*	2*	3*	11*	21*	102*	7	149	257				
C 64	16e jour												4		102	3		107	0	11	0	10

-. TABLEAU 39 .-

Les réponses sont très différentes suivant la date du début de l'expérimentation. La plus précoce déclenche l'expulsion de tous les embryons avant le 21e jour, le taux des embryons anormaux étant en revanche faible (20 %).

Si elle est plus tardive (début au 12e jour) les expulsions sont plus abondantes (11 %) mais la proportion des embryons anormaux est très forte (54 - 100 %) ; si elle est plus tardive encore (début au 16e jour) il n'y a pas d'expulsion prématurée des embryons, le taux d'embryons anormaux est très faible (10 %) et les anomalies très discrètes. Les anomalies des embryons portent toujours sur une altération des proportions du corps produisant des embryons petits et massifs, ou nains, et sur la vitesse de résorption du vitellus qui semble accélérée.

En conclusion, chez les hypophyséoprives le benzoate d'œstradiol est non seulement incapable d'assurer le maintien de l'incubation, mais accentue les effets de l'hypophysectomie en augmentant le taux soit des embryons prématurément expulsés (100 %), soit des embryons anormaux (100 %). En revanche, comme pour l'hypophysectomie, les effets du traitement expérimental sont nuls à partir du 16e jour. En outre, la taille atteinte par le marsupium au part est toujours très nettement supérieure à la normale.

c) Mâles castrés. -

Les résultats sont résumés dans le tableau 40.

Nom	Jours de l'incubation																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
P 125					x	d			p	p		p	p	p	p	p			p		N*
P 69									x	d				p		p	p	p		p	N*
P 117										x	d				p	p	p	p	p	p	N*
X 112														x	d						N

x : jour de la castration d : début du traitement

-. TABLEAU 40 .-

Au moins jusqu'au 11e jour, les injections d'œstradiol déclenchent après un délai de 4 à 5 jours après la castration l'apparition de par-

turitions partielles prématurées très nombreuses (entre 5 et 8), et au 21e jour, on trouve parmi les alevins des embryons normaux ou anormaux.

Pratiquées après le 14e jour, les injections restent sans effet.

Le tableau 41 analyse un exemple de l'action de l'œstradiol.

Nom	Début du traitement	Date démission des emb.	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	An	T p	T g	T e	T a	% e	% a
P 125	5e jour	22/7	2*														2		90		35,8	
		23/7	1*	3*												5	9			251		100
		25/7		2*	8*	9*										10	29					
		26/7		1*	1*	4*										3	9					
		27/7			1*	3*	6*	6*								7	23					
		28/7				1*	1*	2*								1	5					
		29/7				1*	1*	2*	1*							4	9					
		1/8								←		4*		→		1	5					
		3/8								1*	66*	36*	6*	5*	25*	22	165	251				

-. TABLEAU 41 .-

Les parturitions partielles prématurées sont pratiquement quotidiennes, mais de rendement faible en général, puisqu'au total moins de 36 % des embryons sont ainsi expulsés . Tous les embryons sont anormaux ; certains le sont peu, c'est-à-dire courts et massifs, d'autres le sont fortement : le plus souvent, ils sont de taille extrêmement réduite et possèdent un vitellus entièrement résorbé quel que soit leur âge apparent. Enfin, un certain nombre, 15 %, sont monstrueux . D'autre part, le marsupium atteint très vite une taille remarquable très supérieure à la normale.

En conclusion, chez les mâles incubants castrés, comme chez les mâles normaux, l'injection d'œstradiol fait apparaître des troubles caractéristiques de l'incubation : parturitions partielles prématurées, retards et anomalies du développement. La sensibilité à l'action de l'hormone est plus grande que chez les mâles normaux, en raison soit de l'absence spécifique du testicule, soit de l'état de moindre résistance des opérés.

Par rapport aux hypophyséoprives, la sensibilité à l'action hormonale, si on l'estime par le taux d'embryons expulsés et par le taux des

embryons anormaux, reste sensiblement constante. Mais la physionomie de la réaction est différente. Les castrés sont sensibles un peu moins longtemps (14e jour) que les hypophyséoprives (16 e) ; les parturitions partielles prématurées sont dans l'ensemble moins nombreuses chez les hypophysectomisés que chez les castrés. Quant aux malformations, elles restent du même type : nanisme plus ou moins accentué, accélération de la résorption du vitellus par rapport à la normale.

En conclusion, l'action de l'œstradiol sur des mâles incubants soit normaux, soit castrés, soit hypophysectomisés montre que cette hormone n'intervient pas dans le maintien de l'incubation et qu'en outre, elle a sur elle une action nocive. Réduite chez les mâles normaux, cette action est extrêmement forte chez les castrés et les hypophysectomisés, induisant des troubles du type de ceux obtenus par hypophysectomie simple.

3°) Action de la pregnéninolone. -

a) Mâles normaux. -

Les résultats sont rassemblés dans le tableau 42.

Nature des mâles	Nom	Jours de l'incubation																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Normaux	P 71							d			p	p	p	p	p	p	p				p	
	P 83												d				p	p	p	p	p	
	P 85														d			p	p	p	p	N*
	P 84															d			p	p	p	N*
Castré	P 127						x	d							p	p	p	p	p			

-. TABLEAU 42 .-

Les effets de la pregnéninolone sont très rapides et brutaux. Dès le 2e ou 3e jour après le début de l'expérience, les parturitions partielles prématurées apparaissent et se renouvellent à peu près tous les jours. Si l'expérience commence suffisamment tôt, avant le 12e jour, tous les embryons seront expulsés avant le 20e jour, pratiquée après le 12e et au moins jusqu'au 15e, une partie importante des alevins sera libérée le 21e jour.

Le tableau 43 donne une analyse de l'action de la pregnéninolone sur l'incubation.

Nom	Début du traitement	Date d'émission des emb.	Stades 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21	An.	T p	T é	T e	T a	% e	% a
P 85	14e jour	6/7	←14→		14		96		55	
		7/7	←27→		27			174		100
		8/7	←31→		31					
		9/7	4 5 4 5	6	24					
		10/7	←56+21+1→		78	174				

-. TABLEAU 43.-

Nous voyons que le taux d'expulsion est élevé (35 % et que tous les embryons sont plus ou moins anormaux, frappés dans leur croissance qui n'est plus normale. Dans l'ensemble, ils sont courts, ou petits, voire nains, et présentent une résorption anormalement rapide du vitellus.

Donc la pregnéninolone, connue pour ses effets ambivalents sur les structures susceptibles de répondre à l'action des hormones sexuelles, se montre particulièrement nocive sur l'incubation des mâles normaux. Son action confirme les résultats obtenus par la testostérone et l'œstradiol.

b) Mâles castrés. -

1 seul mâle incubant castré a survécu à l'immersion dans la pregnéninolone qui, pour les castrats, s'est révélée assez toxique aux doses employées (tableau 42, page 189).

Comme précédemment des parturitions partielles prématurées sont apparues, mais après un délai beaucoup plus long (8 jours), puis se sont renouvelées tous les jours jusqu'à la libération de tous les embryons.

4°) Action de la progestérone (tableau 44, page 191). -

a) Mâles normaux. -

Injectée du 5e au 15e jour de l'incubation cette hormone reste sans effet sur l'incubation qui se déroule normalement et libère des alevins normaux au 21e jour.

Nature des mâles	Nom	Jours de l'incubation																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
normaux	P 137					d																N		
	P 209							d														N		
	P 210								d													N		
	P 82								d													N		
	P 131										d											N		
	P 211											d										N		
	P 81														d							N		
	P 114														d							N		
hypophysectomisés	C 54						x	d														N		
	C 179								x	d												N		
	V 192												x	d								N		
	C 175													x	d							N		
	X 113														x	d						N		
	P 108															x	d					N		
	P 120															x	d					N		
	X 112																	x	d			N		
castrés	P 128										x	d	p							p	p	N		
	P 112												x	d	p						p	N	N	N

x : jour de l'opération (castration ou hypophysectomie) d : début du traitement.

-. TABLEAU 44 .-

b) Mâles hypophysectomisés. -

8 mâles hypophysectomisés reçoivent 250 γ de progestérone tous les 3 jours entre le 6e et le 17e jour de l'incubation. La parturition est parfaitement normale le 21e jour et il ne se manifeste aucun des troubles induits par l'hypophysectomie simple. On peut en déduire que le maintien et le contrôle de l'incubation impliquent l'existence d'hormones du type progestérone et que celles-ci sont nécessaires jusqu'au 16e jour, la secrétion de ces hormones étant subordonnée à l'hypophyse.

c) Mâles castrés. -

2 mâles castrés seulement sur 8 ayant reçu chacun 750 γ de progestérone ont survécu à ces injections. Après deux jours, on voit se manifester des troubles de l'incubation : les parturitions partielles prématurées sont accompagnées d'une dispersion des stades de développement, de l'apparition d'embryons anormaux ; en outre le part est allongé.

Une fois de plus, il est difficile d'analyser ces résultats ; nous incriminerions cependant dans ce cas une sensibilisation des castrats due à leur traumatisation chirurgicale (voir page 148). En effet, les premières parturitions partielles prématurées n'intéressent qu'un petit nombre d'embryons (moins d'une dizaine) à peu près normaux. Les dernières parturitions partielles prématurées sont très tardives et les embryons expulsés relativement peu retardés par rapport à la normale ; enfin la plupart des alevins sont normaux. Tout ceci plaide en faveur d'une moindre résistance des castrats à l'action d'une hormone qui s'est révélée toxique à l'emploi.

En conclusion, la progestérone ne trouble pas l'incubation chez les mâles normaux et la rétablit dans sa normalité chez les hypophyséoprives. Il est vraisemblable que chez les mâles incubants une ou plusieurs hormones de ce type contrôlent le maintien et le déroulement de l'incubation. Chez les castrats, l'injection fait apparaître des troubles minimes. La question reste posée de savoir si l'absence des testicules joue d'une manière spécifique.

5°) Conclusions générales relatives à l'action des hormones gonadiques. -

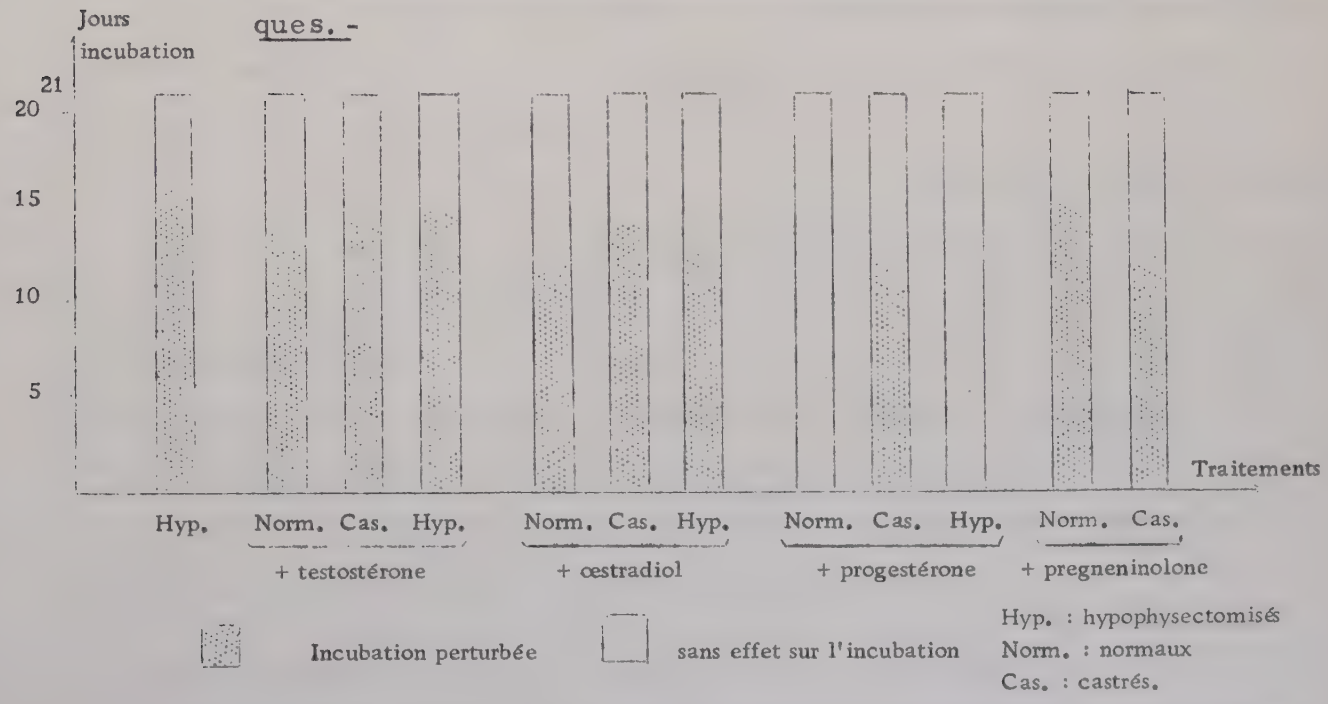


Fig. 56 : Action de l'hypophysectomie et des traitements hormonaux sur les mâles incubants.

1°) L'œstradiol, la testostérone et la pregnéninolone déclenchent chez les mâles incubants normaux ou castrés des troubles de l'incubation semblables à ceux obtenus par hypophysectomie. Plus ou moins tôt, après le début des injections, on voit apparaître des parturitions partielles prématurées en nombre variable et au 21e jour on trouve en général, parmi les alevins normaux ou non, des embryons normaux ou non.

Les délais d'apparition de ces troubles varient avec les hormones utilisées, dans l'ordre d'activité décroissante : pregnéninolone, testostérone, œstradiol. Le mode d'administration de la pregnéninolone (dissoute dans l'eau) explique peut être sa plus grande activité (à rapprocher des résultats obtenus avec la métopirone, voir infra page 199). De la même façon, et dans le même ordre d'efficacité, les anomalies des embryons sont variables suivant l'hormone employée : très fortes avec la pregnéninolone et la testostérone, elles sont moins marquées avec l'œstradiol.

D'une manière constante les castrés se montrent plus sensibles à l'action des hormones que les animaux entiers. Il est difficile de savoir si l'absence de testicule joue de manière spécifique car il est hors de doute que la traumatisation chirurgicale de la castration entraîne une moindre résistance des opérés, dont la mortalité est très élevée (entre 40 et 60 %) par rapport aux normaux traités de la même façon (0 %).

D'une façon générale, les anomalies du développement embryonnaire sont plus marquées que celles consécutives à l'hypophysectomie, notamment par des altérations de la vitesse de résorption du vitellus : elle peut être soit accélérée et dans ce cas accompagnée presque toujours d'un nanisme parfois considérable de l'embryon, soit fortement ralentie et accompagnée dans ce cas de modifications variées des proportions du corps de l'embryon. Dans l'ensemble, la testostérone et la pregnéninolone induisent une résorption anticipée du vitellus, l'œstradiol au contraire la retarde.

2°) Administrés à des hypophyséoprives la testostérone, l'œstradiol et la pregnéninolone n'empêchent pas l'apparition de troubles de l'incubation.

De telles hormones ne sont donc pas impliquées dans le maintien normal de l'incubation chez les mâles normaux. Elles ne semblent ni raccourcir le temps de sensibilisation à l'hypophysectomie, ni augmenter sensiblement le taux d'expulsion des embryons, mais en revanche, elles accroissent considérablement le nombre d'embryons anormaux. Cela semble confirmer (voir page 171) une certaine indépendance entre les anomalies du développement d'une part et l'expulsion prématurée des embryons d'autre part, les deux phénomènes quoique liés, pouvant apparaître simultanément ou non. Nous essaierons plus loin (page 302) d'en expliquer le mécanisme.

L'injection de ces hormones aux hypophyséoprives ne modifie donc pas fondamentalement les effets de l'hypophysectomie, mais les accentue.

3°) La progestérone injectée à des hypophyséoprives rétablit l'incubation dans sa normalité : aucun trouble n'apparaît ni dans son évolution, ni chez les jeunes libérés. Chez le mâle le déroulement normal de l'incubation est donc contrôlé par des hormones indentiques ou analogues à la progestérone, libérées par une commande hypophysaire. L'injection de progestérone à des mâles normaux ne perturbe aucunement l'incubation, ce qui est en accord avec la conclusion précédente. Chez les castrés la progestérone semble à première vue avoir une action différente et perturbatrice, quoique la mortalité ait été élevée (71 %) et les résultats positifs trop réduits pour être généralisés. Cependant l'importance des troubles induits est si réduite qu'ils nous semblent dûs au traumatisme plutôt qu'à l'absence des testicules.

IV. - ACTION DES CORTICOIDES, DE L'ACTH ET D'UN INHIBITEUR SURRENALIEN. -

Nous venons de mettre en évidence l'action d'hormones de type progestatif dans le maintien de l'incubation chez l'Hippocampe. Chez le mâle une source éventuelle de corps de ce type s'impose à l'esprit : l'interrénal.

Dans le but de mettre en évidence l'action éventuelle des corticoïdes, j'ai réalisé les expériences suivantes :

1°) 7 mâles incubants sont hypophysectomisés entre le 4e et le 13e jour de l'incubation, puis dès le lendemain de l'opération :

a) 5 reçoivent une injection de 200 µg de cortisone répétée tous les 4 jours.

b) 2 reçoivent une injection de 250 µg de DOCA répétée tous les 4 jours.

Dans tous les cas l'incubation s'est poursuivie normalement (tableau 45) et a abouti à l'émission d'alevins normaux. Par conséquent la normalité de l'incubation a effectivement été rétablie par ces hormones corticales.

Nature du traitement.	Nom	Jours de l'incubation																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Cortisone	V 82				x	d																N		
	V 76					x	d															N		
	V 187								x	d												N		
	V 161												x	d								N		
	V 189													x	d							N		
DOCA	V 246										x	d										N		
	V 244													x	d							N		
ACTH	V 70	x	d																			N		
	V 80	x	d																			N		
	V 186						x	d														N		N
	V 191						x	d														N		
	V 160								x	d												N		
	C 152								x	d												N	N	N
	V 178									x	d											N		
	C 166												x	d								N		
	V 270													x	d							N		
	C 180														x	d						N		
	C 170																x	d				N		
	C 151																	x	d			N		

x : hypophysectomie d : début du traitement.

-. TABLEAU 45 .-

2°) 12 mâles incubants sont hypophysectomisés entre le 1er et le 17e jour de l'incubation, puis dès le lendemain de l'opération reçoivent une injection de 1,25 UI d'ACTH répétée tous les 4 jours.

De la même façon, dans tous les cas l'incubation s'est poursuivie de façon normale et au 21e jour les embryons libérés sont parfaitement normaux. On peut donc en déduire que l'incubation est bien sous la dépendance d'hormones corticostéroïdes d'origine interrénale dont la sécrétion est contrôlée par l'intermédiaire de l'ACTH hypophysaire.

3°) 4 mâles incubants normaux pris entre le 4e et le 12e jour de l'incubation reçoivent chacun 2 injections de 3 UI d'ACTH, renouvelées 2 jours après. Le maintien de l'incubation n'est pas perturbé, il n'apparaît pas de parturitions partielles prématurées, mais en revanche, une partie importante de la progéniture montre des troubles variés du développement embryonnaire : retards du développement, accélération de la résorption du vitellus, nanisme, malformations diverses. Chez les mâles normaux l'ACTH a donc une action pertubatrice rapide du développement embryonnaire.

4°) Avant de contrôler histologiquement ces résultats et m'inspirant des résultats acquis en pathologie médicale, j'ai essayé de voir si des résultats comparables à ceux de l'hypophysectomie pourraient être obtenus par des doses massives, mais limitées dans le temps, de certains corticostéroïdes afin de freiner la secrétion d'ACTH.

A cet effet 5 mâles ont reçu tous les deux jours pendant une semaine au plus, 625 µg de cortisone ; 14 mâles ont été placés pendant une semaine au plus dans des aquariums contenant 2,5 mg/l de Δ_1-hydrocortisone renouvelée tous les 2 jours ; 8 mâles ont reçu chacun 1 injection de 200 µg de 9-α-fluoro-16-méthyl-Δ_1-hydrocortisone renouvelée 2 fois à 2 jours d'intervalle. Tous ces mâles étaient en incubation.

Les résultats sont résumés par les tableaux 46 et 47, pp. 197,198

Nature du traitement	Nom	Jours de l'incubation																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Cortisone	V 266						d							p	p	p	p					N*					
	V 265													d				p	p	p		N*		N*			
	V 255														d					p		N	N				
	V 235																d					N					
	V 236																d					N*					
SDN	O 50		d								p											N					
	O 53 bis						d									p						N					
	O 53								d													N					
	T 15										d							p				N					
	O 52											d									p	N*					
	T 14													d							p	N*		N			
	T 13													d								N*					N
	N 109																		d			N	N	N			
	N 110																		d			N		N			
	N110 bis																			d		N					
	N 111																			d		N					
	N 112																			d		N					
Cortancyl	V 259							d														N*					
	V 260								d													N*	N*				
	V 240									d												N*					
	V 112										d				p							N					
	V 261										d									p		N					
	V 237												d									N*		N*			
	V 264												d									N	N				
	V112 bis													d					p			Nm+v					
	V 263													d								N					
	V 257															d						N*					
	V 256																d					N*	N	N	N		
	V 258																	d			p	N*		N	N*		

d : début du traitement

-. TABLEAU 46 .-

a) Cortisone : Injectée avant le 15e jour de l'incubation la cortisone détermine l'apparition de parturitions partielles prématurées, de retards et d'anomalies du développement embryonnaire. Cependant le nombre d'embryons expulsés reste faible, même si celui des embryons anormaux est grand. Après le 15e jour, elle peut parfois entraîner des avortements tardifs. On retrouve ici des effets analogues à ceux de l'hypophysectomie simple.

	Nom	Début du traitement	Date d'émission des embr.	Stades 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21	An.	T p	T g	T e	T a	% e	% a
Cortisone	V 266	6e jour	29/8	6 11 1		18		103		27,0	
			30/8	3 29		32			381		100
			31/8	49		49					
			1/9	1* 2 1		4					
			6/9	← 22* → 255*		278	381				
	V 265	13e jour	24/8	2 1 1	3	7		26		6,1	
			25/8	2* 7*	2	11			427		76,1
			26/8	1* 5* 2*		8					
			28/8	21 *66 + *	14	128					
			30/8	27 22	366	409	563				
				+ 21 m							
SDN	O 52	11e jour	14/7	6* 1* 4 6 1		19		19		21,2	
			15/7	68 72 11*		151	170				
Cortancyl	V 112	10e jour	11/7	11 12	1	24		24		7,5	
			18/7	24** +206 88		318	342				
	V 261	10e jour	30/8	← 11* → ← 15* → 141*		167		167		75,0	
			1/9	55*		56	223		223		100
	V 237	12e jour	23/8	10*	3	13		69		10,5	
			25/8 matin	6	50	56			588		89,9
			25/8 soir	7* 11+ *65* 497	4	584	653				
	V 258	17e jour	23/8	1 5 2	1	9		49		10	
			24/8	← 16* →	2	18			494		100
			26/8	← 21* →	1	22					
			27/8	447*	1	118	494				

-. TABLEAU 47 .-

b) Cortancyl (Δ_1 hydrocortisone) : Jusqu'au 17e jour de l'incubation l'administration de Cortancyl a perturbé l'évolution de l'incubation et du développement embryonnaire. On retrouve encore les anomalies de la croissance, les retards du développement, et les parturitions partielles prématurées dont les apparitions sont cependant beaucoup moins nombreuses et d'un rendement faible en général (10 %). Il faut noter aussi les délais d'expulsion des alevins qui sont notablement augmentés chez 60 % des individus . Les anomalies sont toujours du même type : nanisme plus ou moins accentué, accélération de la résorption du vitellus, malformations diverses (telles la

lordose, la scoliose, la brachyurie, l'agénésie de la face, l'œdème péricardique, etc...). En outre, un bon nombre d'alevins ou d'embryons sont expulsés dans leur enveloppe qui ne reste intacte qu'en cas de mort prénatale.

c) Soludécadron (9-α-fluoro-16-méthyl-Δ_1-hydrocortisone).

Les injections de ce corticoïde de synthèse déclenchent l'apparition de troubles de l'incubation jusqu'au 16e jour et deviennent inefficaces par la suite. Ici aussi on observe des parturitions partielles prématurées, des retards, des anomalies du développement embryonnaire. Le taux d'expulsion est faible (entre 0 et 20 %) et le nombre des anormaux relativement peu important ; en outre les anomalies restent discrètes, caractérisées par une tendance plus ou moins marquée au nanisme.

En résumé, tous ces corticoïdes naturels ou de synthèse, en freinant la corticostimulinie hypophysaire déterminent des troubles de l'incubation comparables à ceux dûs à l'hypophysectomie. Ainsi se confirme le rôle de l'interrénal dans l'incubation.

5°) De la même façon, j'ai essayé d'agir au niveau interrénalien par l'emploi de la métopirone (SU 4885 Ciba) (1) qui inhibe sélectivement la formation des précurseurs des corticoïdes par blocage de la 11 β hydroxylation.

A cet effet, ont été constitués deux lots, chacun de 20 Hippocampes mâles incubants :

a) 20 d'entre eux reçoivent tous les 4 jours 2,5 mg de métopirone en injection intrapéritonéale,

b) Les 20 autres sont placés dans des aquariums contenant 50 mg/l de métopirone, cette solution étant renouvelée tous les 4 jours. 6 animaux d'expérience sont morts avant la fin de l'incubation ; 5 ont été fixés en cours d'expérience.

---

(1) Gracieusement fourni par les laboratoire Ciba que nous remercions.

Les tableaux 48 et 48 bis résument les résultats acquis.

Nature du traitement .	Nom	Jours de l'incubation																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Métopirone (solution)	O 56	d														p	p°								
	O 57	d																mort							
	O 36		d															mort							
	O 22		d												mort										
	O 32			d																	p	N*	N*		
	O 59			d																p°					
	O 63																p			p		N*			
	O 21				d							p			p	p						N*		N	
	O 31				d															p°					
	O 35				d														p	p	mort				
	O 33						d															N*	N*		
	O 65								d											p		N*			
	O 20											d		p	p					p		N*	N		
	O 34													d					p	p°					
	O 55													d								N*			
	O 68															d						N*			
	O 67																d					N			
	O 62																	d				N			
Métopirone (injections)	O 43				d											p	p	p	p	p°					
	O 38					d										mort									
	O 39											d										N*			
	O 46											d				mort									
	O 45												d									N*	N*	N*	
	O 66												d							p		N*			
	O 48												d									N*			
	O 60													d							p	N*			
	O 42														d							N			
	O 64														d							N*			
	O 70																d					N			
	O 44																d					N		N	
	O 69																d					N	N		
	O 41																d					N	N	N	
	O 47															.			d			N			
	O 61																		d			N			
	O 40									d									p		p	N*			

d : début du traitement

p° : expulsion totale des embryons avant le 21e jour.

-. TABLEAU 48 .-

On constate d'abord que l'administration de la métopirone dans l'eau de l'aquarium est beaucoup plus active et plus toxique que l'administration par injection. Quant aux anomalies que manifestent tous les embryons

incubés ou tous les alevins émis, elles sont telles qu'il est très difficile -ou impossible- de rétablir exactement la chronologie de l'incubation, les embryons normaux et surtout les alevins normaux pouvant servir de repère faisant ici totalement défaut (fig. 57, p. 202).

Nom	Début du traitement	Date d'émission des emb.	Stades 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21	An	Tp	Tg	Tc	Ta	%c	%a
O 20	11e jour	22/7	71*	5	76		82		13	
		23/7	2*		2			632		100
		28/7	4*		4					
		30 et31/7	69*	1	570	632				
O 21	4e jour	28/7	10*		10		185		80	
		31/7	←87*→		87			232		100
		1/8	←88*→		88					
		7/8	4* 6* 3* 27*		40					
		9/8	7*		7	232				
O 45	12e jour	14/8	←22*→ ←31*→ 5*	27	107			244		100
		15/8	← 26*→ ←25*→ 2*	54	52					
		16/8	11* ← 20*→	21		244				

-. TABLEAU 48 bis.-

On peut en déduire les conclusions suivantes :

1°) La métopirone déclenche des troubles de l'incubation comparables à ceux provoqués par les autres méthodes.

2°) La métopirone en solution est active jusqu'au 15e jour au moins, en injections jusqu'au 14e jour.

3°) Son action précoce entraîne l'expulsion de tous les embryons avant la date du part, mais même si elle est plus tardive le taux d'expulsion reste fort et compris entre 60 et 100 %.

Il est extrêmement délicat d'interpréter ces résultats, la métopirone ayant des effets secondaires multiples bien mis en évidence par les auteurs (cf. OLIVEREAU, 1960 ; BALL, 1962 ; STOLL et al., 1964). Cependant son action principale étant représentée par l'inhibition de la synthèse des corticoïdes surrénaliens normaux, on peut admettre que l'apparition des parturitions

A

B

Fig. 57 : ACTION DE LA METOPIRONE

A : parturition partielle prématurée (x 15)

B : individus anormaux libérés au 21e jour de l'incubation. (x 15)

partielles prématurées, et au moins une partie des troubles du développement embryonnaire, sont spécifiquement dus à l'action inhibitrice de ce corps sur l'excrétion des corticoïdes paternels. On retrouverait donc là des phénomènes identiques à ceux précédemment mis en évidence et confirmant que l'interrénal et ses productions contrôlent le maintien et le déroulement de l'incubation chez l'Hippocampe mâle.

Cependant l'ampleur des perturbations semble prouver que la métopirone agit aussi sur l'embryon lui-même et accentue ainsi ses effets jusqu'à un degré quasi catastrophique.

V.- ACTION DE LA PROLACTINE.-

Divers auteurs, NOBLE, KEMPF et BILLINGS (1936 - 1938), HILDEMANN (1959), ISHII (1960), FIEDLER (1962), EGAM et ISHII (1962) et BLÜM et FIEDLER (1965) ayant émis l'hypopthèse d'une action de la prolactine dans la reproduction de divers Téléostéens, j'ai été amené à rechercher son action éventuelle sur l'incubation chez l'Hippocampe. Si cette action ne ressort pas clairement des expériences rapportées ci-dessous, nous verrons que la prolactine a une très forte action stimulante sur l'épithélium marsupial et joue un rôle primordial dans le déroulement des phénomènes incubatoires. C'est pourquoi nous exposons là des résultats expérimentaux dont l'interprétation sera discutée plus loin (chapitre VI, page286).

1°) Action sur les mâles normaux. -

6 mâles ont été pris entre le 2e et le 14e jour de l'incubation et reçoivent tous les 2 jours une injection de 2,5 UI de prolactine. Ils sont sacrifiés soit 4, soit 7 jours après la première injection, ayant ainsi reçu respectivement soit 5, soit 7,5 UI de prolactine au total.

Résultats. -

N'ayant pas attendu le part, je ne sais pas s'il y aurait eu des parturitions partielles prématurées ou non. Toutefois, les animaux sacrifiés

à 24 heures ou moins du part n'ont montré aucune tendance à l'expulsion des embryons. En outre, tous les animaux contiennent parmi leur progéniture normale une forte proportion d'embryons retardés ou anormaux, les anomalies portant le plus souvent sur la résorption accélérée du vitellus.

Il est donc hors de doute que dans ces conditions expérimentales la prolactine a une action perturbatrice sur le déroulement de l'incubation chez les mâles normaux.

2°) Action sur les hypophyséoprives. -

4 mâles incubants pris entre le 7e et le 13e jour de l'incubation ont été hypophysectomisés, puis dès le lendemain de l'opération reçoivent une injection de 2,5 UI de prolactine renouvelée tous les 3 jours. Suivant l'état d'avancement de l'incubation, ils reçoivent ainsi 4 ou 3 injections successives, soit respectivement une dose totale de 10 ou 7,5 UI de prolactine.

Résultats (tableaux 49 et 50). -

Nature du traitement	Nom	Jours de l'incubation																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Prolactine	V 247							x	d					p					p			N	
	V 271								x	d								p		p		N	N
	C 184												x	d						p	p	N*	
	V 251													x	d				p	p		N	N

x : hypophysectomie d : début du traitement

-. TABLEAU 49 .-

Nom	Début du traitement	Date d'émission des embr.	Stades														An	Tp	Tg	Te	Ta	% e	% a
			9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21								
C 184	9e jour	17/8									3*							3		219		43	
		18/8									12	14	42	147				216			251		49
		19/8												32*	254*			296	515				
V 251	14e jour	3/9									7	15	16				4	42		71		29	
		4/9										3	6	18			2	29			71		29
		6/9													64			64					
		7/9													111			111	246				

-. TABLEAU 50 .-

Dans ces conditions expérimentales la prolactine se révèle incapable de normaliser l'incubation. On voit apparaître des parturitions partielles prématurées et les troubles habituels du développement embryonnaire (retards, malformations variées). Toutefois, ces parturitions partielles prématurées apparaissent tardivement et dans l'ensemble les perturbations induites sont relativement discrètes, sauf pour les interventions précoces.

VI.- ACTION CONJOINTE DE L'ACTH ET DE LA PROLACTINE.-

3 mâles incubants pris entre le 15e et le 16e jour de l'incubation reçoivent chacun une injection, renouvelée 2 jours plus tard, d'un mélange de 3 UI d'ACTH et de 2,5 UI de prolactine.

Résultats.-

Les expériences n'ont pu, malheureusement, être poursuivies que sur des animaux pris dans la 2e moitié de l'incubation. Dans ces conditions expérimentales la parturition est absolument normale libérant des alevins normaux en tous points semblables aux témoins. Ce traitement expérimental reste sans effet sur l'incubation.

-. Conclusions du chapitre IV .-

La castration ne perturbe nullement l'incubation ; le testicule par conséquent ne joue aucun rôle dans le déroulement de ce phénomène. En revanche, l'hypophysectomie, à condition d'être suffisamment précoce, déclenche des troubles variés plus ou moins graves : le processus de l'incubation est donc sous déterminisme hypophysaire. Le rôle normalisant de la progestérone chez les hypophysectomisés démontre que de telles hormones sont à la base du contrôle hormonal de l'incubation. L'action chez les hypophyséoprives des corticoïdes comme la cortisone ou le DOCA, et de l'ACTH confirment un contrôle de l'incubation par l'interrénal.

En résumé, chez l'Hippocampe mâle l'incubation et le déroulement normal du développement embryonnaire sont assurés par des corticoïdes surrénaliens dont la sécrétion est contrôlée par l'hypophyse. Toute atteinte à l'axe hypophyso-surrénalien déclenche l'apparition des troubles caractéristiques qui sont dus (voir chapitre VI, et VII, pages 232 et 304) à des déficiences des structures marsupiales : conjonctif et épithélium interne d'une part, milieu liquide interne d'autre part.

Cependant, l'analyse expérimentale ayant abouti à incriminer surtout l'interrénal, il s'impose d'en aborder l'étude histologique afin de rechercher une vérification de la conclusion expérimentale.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-